

SÉRIE A, N° 3929

N° D'ORDRE : 4780

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André CAVÉ

**1^{re} THÈSE. — Étude chimique de nouveaux alcaloïdes
extraits des feuilles de l'*Holarrhena
floribunda* (Apocynacées).**

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 22 Juin 1962 devant la Commission d'examen.

MM. PREVOST	<i>Président</i>
CHOUARD	} <i>Examineurs</i>
JULIA M.	

PARIS
JOUVE, ÉDITEURS

15, rue Racine, 15

1962

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Nom du Candidat : CAVÉ André

Date de la soutenance : 22 Juin 1962

Numéro d'ordre : N° 4780

1

CAVÉ (André). — Étude chimique de nouveaux alcaloïdes extraits des feuilles de *Holarhena floribunda*, Apocynacées. — Paris, 1962, Jouve, éditeurs, in-8°, 142 pages.

Th. Sc. Nat. Paris, 1962. Sér. A. 3929, N° 4780.

2

CAVÉ (André). — Étude chimique de nouveaux alcaloïdes extraits des feuilles de *Holarhena floribunda*, Apocynacées. — Paris, 1962, Jouve, éditeurs, in-8°, 142 pages.

Th. Sc. Nat. Paris, 1962. Sér. A. 3929, N° 4780.

3

CAVÉ (André). — Étude chimique de nouveaux alcaloïdes extraits des feuilles de *Holarhena floribunda*, Apocynacées. — Paris, 1962, Jouve, éditeurs, in-8°, 142 pages.

Th. Sc. Nat. Paris, 1962. Sér. A. 3929, N° 4780.

4

CAVÉ (André). — Étude chimique de nouveaux alcaloïdes extraits des feuilles de *Holarhena floribunda*, Apocynacées. — Paris, 1962, Jouve, éditeurs, in-8° 142 pages.

Th. Sc. Nat. Paris, 1962. Sér. A. 3929, N° 4780.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE A, N° 3929

N° D'ORDRE : 4780

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

André CAVÉ

**1^{re} THÈSE. — Étude chimique de nouveaux alcaloïdes
extraits des feuilles de l'*Holarrhena
floribunda* (Apocynacées).**

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 22 Juin 1962 devant la Commission d'examen.

MM. PREVOST	<i>Président</i>
CHOUARD	{ <i>Examineurs</i>
JULIA M.	

PARIS
JOUVE, ÉDITEURS

15, rue Racine, 15

1962



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen.....J. PÉRÈS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	CUVILLIER	T	Micropaléontologie.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.	JUNG	T	Pétrographie.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	WIEMANN	T	Chimie organique et structurale.
BOURCART.....	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	JACQUINOT	T	Spectroscopie (Orsay).
PLANTEFOL	T	Botanique.	VASSY	T	Physique de l'Atmosphère.
GRASSÉ	T	Evolution des êtres orga- nisés.	DESTOUCHES	T	Théories Physiques.
PRÉVOST	T	Chimie organique.	PRUVOST	T	Géologie.
BOULIGAND.....	T	Analyse appliquée à la Géométrie.	AMIEL	T	Chimie des Solides.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	HOCART.....	T	Minéralogie et Cristal- lographie.
WYART	T	Minéralogie et Cristallogr.	J. P. MATHIEU	T	Recherches Physiques.
TEISSIER	T	Zoologie.	COUTEAUX	T	Biol. Animale (P. C. B.).
MANGENOT	T	Biologie Vég. (Orsay).	MAY.....	T	Zoologie (Orsay).
AUGER.....	T	Physique quantique et Relativité.	CHOQUET.....	T	Théorie des fonctions et Topologie.
MONNIER	T	Physiologie des Fon- ctions.	FELDMANN	T	Biologie Végétale (P.C.B.).
PIVETEAU	T	Paléontologie.	GUINIER	T	Physique des Solides (Or- say).
ROCARD	T	Physique (E. N. S.).	JOST	T	Physiologie comparée.
CARTAN	T	Mathématiques (E. N. S.).	FORTET	T	Calcul des Probabilités.
LAFFITTE	T	Chimie Générale.	SCHWARTZ.....	T	Calcul diff. et Intégral.
FAVARD.....	T	Géométrie supérieure.	CHOUARD	T	Physiologie Végétale.
COULOMB	T	Physique du Globe.	MALAVARD	T	Aviation (Techn. Aéro- naut.).
M ^{lle} COUSIN	T	Biologie.	BRELOT	T	Calcul différentiel.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	NORMANT	T	Synthèse organique géné- rale.
DRACH	T	Zoologie.	BÉNARD	T	Chimie (E. N. S. C. P.).
KASTLER	T	Physique (E. N. S.).	BUVAT	T	Botanique (E. N. S.).
EPHROSSI	T	Génétique.	DUGÉ	T	Statistiques Mathémati- ques.
RIVIÈRE	T	Géologie (Orsay).	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie.
GAUTHERET	T	Biologie (P. C. B.).	ULRICH	T	Physiologie Végétale (E. N. S.).
LUCAS R.	T	Recherches Physiques.	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire.	KIRRMANN	T	Théories Chimiques.
ARNULF	T	Optique appliquée.	CHADEFAUD	T	Botanique.
MORAND	T	Physique Enseignement.	M ^{lle} LE BRETON	T	Physiologie.
SOLEILLET	T	Physique (P. C. B.).	SALEM	T	Mathématiques générales.
FORTIER	T	Mécan. expérimentale des Fluides.	LELONG	T	Mathématiques générales.
DANJON	T	Astronomie.	DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées.
PETIT	T	Biologie maritime.	EHRESMANN	T	Topologie Algébrique.
QUENEY	T	Météorologie et dynami- que atmosphérique.	FRANÇON	T	Physique (S. P. C. N.).
GALLIEN	T	Embryologie.	GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
EICHHORN.....	T	Biologie Végétale (P.C.B.).	GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.).
DE CUGNAC	T	Biologie Végétale (S. P. C. N.).	PISOT.....	T	Calcul des Probabilités.
M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie Physique.	ROCH	T	Géologie.
THELLIER	T	Physique du Globe.	SCHATZMAN.....	T	Astrophysique.
L'HÉRITIER	T	Biologie Générale (Orsay).	TERMIER	T	Paléontologie stratigra- phique.
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
PONCIN	T	Mécanique Générale.	LENNUIER	T	Physique (P. C. B.).
DUBREIL	T	Arithmétique et Théorie des Nombres.	RIZET	T	Génétique (Orsay).
QUELET	T	Chimie Organique.	ROUTHIER.....	T	Géologie appliquée.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.	M ^{me} TONNELAT	T	Relativité.
CHAMPETIER	T	Chimie Macromoléculaire.			

DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).	LENDER	Biologie Animale (S. P. C. N.) (Orsay).
SOUCHAY	T	Chimie (P. C. B.).	MAGAT	Physico-chimie des rayonnements.
AIGRAIN	T	Electrotechnique générale.	Mlle QUINTIN	T Electrochimie.
BRUSSET		Chimie minérale.	MONOD	T Biochimie Cellulaire.
M. LÉVY	T	Physique théorique des hautes Energies (Orsay).	BENOIT	T Physiol. Anim. (Orsay).
M ^{me} CHAIX	T	Chimie biologique.	DE POSSEL	T Analyse numérique.
M ^{me} HUREL-PY		Biologie Végétale (P.C.B.).	CHARLOT	T Chimie analytique.
PIAUX	T	Chimie (S. P. C. N.).	HAISSINSKY	T Radiochimie.
BRUN	T	Mécan. expérimentale des fluides.	LEMÉE	T Physiol. B. M. P. V. (Orsay).
LEDERER	T	Chimie biologique.	GUÉRIN	T Chimie (Orsay).
M ^{me} DUBREIL	T	Mathématiques (Agrég.).	CHATELET M.	Chimie (P. C. B.).
M ^{me} LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.).	JEAN	Physique (Orsay).
BELLAIR	T	Géologie (S. P. C. N.).	MATTLER	T Physique.
COTTE	T	Physique (M. P. C.).	MICHEL Louis	Physique théor. (Orsay).
DUBOIS J. E.	T	Chimie (M. P. C.).	RUMPF	Chimie (P. C. B.).
LAMOTTE	T	Zoologie (E. N. S.).	BERGERARD	Biol. Anim. (S. P. C. N.) (Orsay).
MICHEL André	T	Chimie Minérale (Orsay).	BERTEIN	Electronique (Orsay).
OLMER	T	Energétique générale.	BOUSSIÈRES	Chimie des Radioléments (Orsay).
ROUAULT	T	Physique.	M ^{me} COUTURE	Thermodynamique et Mécanique Physique.
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée.	ELLENBERGER	Géologie appliquée.
BARCHIEWITZ	T	Chimie Physique.	FRANC	Biol. Animale (P. C. B.).
BROSSEL	T	Physique atomique.	SCHNELL	Botanique tropicale (Orsay).
BUSER		Biologie animale (P.C.B.).	STOLKOWSKI	Biol. Animale (P. C. B.).
CAMUS		Biologie végétale (P.C.B.).	ACHER	Chimie Biol. (Orsay).
CASTAING	T	Physique (Orsay).	BAUDOIN	Biologie.
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallographie.	BEAUMONT	Biologie animale.
MOYSE	T	Physiologie végétale (Orsay).	BLAMONT	Géophysique Ionosphère.
PANNETIER	T	Chimie (Orsay).	BOURREAU	Biologie Végétale (S. P. C. N.) Orsay.
POSSOMES	T	Biologie Animale (P.C.B.).	CURIE D.	Physique (M. G. P.).
PULLMANN		Chimie théorique.	DURAND-DELGA.	Géologie.
TEILLAC	T	Physique Nucléaire et Radioactivité.	FRÉON	Chimie Organique (Orsay).
TONNELAT		Biologie physico-chim.	HELLER	Physiologie végétale.
VILLE	T	Econométrie.	TORTRAT	Calcul des Probabilités.
WILLEMART		Chimie (P. C. B.).	CAILLEUX	Géologie (S. P. C. N.).
DODE	T	Chimie (Orsay).	MAGNAN	T Physique (P. C. B.).
FREYMANN	T	Physique (S. P. C. N.).	DAUDEL	Mécanique ondulatoire appliquée à la chimie théorique et à la Physique nucléaire.
GUINOCHET	T	Biologie Vég. (Orsay).	Mlle FOURCROY	Biologie Végétale (S. P. C. N.).
ROLLET	T	Chimie (P. C. B.).	BARRAUD	Physiologie Cellulaire.
Mlle JOSIEN	T	Chimie (P. C. B.).	NOIROT	Evolution des êtres organisés.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes.	M ^{me} FOURÉS-BRUHAT	T Mécan. Analytique et Mécanique céleste.
ARNOULT	T	Electronique (Orsay).	Mlle VEIL	Physiologie Générale.
CHAPELLE	T	Physique (Orsay).	LWOFF	T Microbiologie.
DELANGÉ	T	Mathématiques (Orsay).	SIESTRUNCK	T Mécanique physique et expérimentale.
DENY	T	Mathématiques Générales (Orsay).	LACOMBE	T Métallurgie (Orsay).
GERMAIN	T	Mécanique théorique des fluides.	BROCHARD	T Physique P. C. B. (Orsay).
LUCAS G.	T	Géologie.	CABANNES	T Mécanique générale.
ALLARD		Chimie Physique.	LESIEUR	T Mathématiques M. P. C. (Orsay).
BERTHELOT	T	Physique Fondamentale des Hautes Energies (Orsay).	MAZET	T Mécanique générale (Orsay).
BRICARD		Météorologie.		
M ^{me} ALBE-FESSARD ..		Psychophysiologie.		
FRIEDEL		Physique des Solides (Orsay).		
M. JULIA		Chimie Organ. Structurale.		

Secrétaire général.....R. POULLAIN.

A MONSIEUR CHARLES PREVOST

Professeur de chimie organique à la Faculté des Sciences

*Qui a bien voulu me faire l'honneur de présider
le jury de cette thèse.*

A MONSIEUR PIERRE CHOUARD

Professeur de physiologie végétale à la Faculté des Sciences

A MONSIEUR MARC JULIA

Professeur à la Faculté des Sciences

*Qui ont accepté de juger ce travail.
Hommage de respectueuse gratitude.*

A MONSIEUR MAURICE-MARIE JANOT

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris

Membre de l'Académie nationale de Médecine

Directeur de l'Institut de Chimie des Substances naturelles du C. N. R. S.

*Qui m'a accepté dans son laboratoire, m'a
confié ce travail et m'a prodigué tant de marques
d'intérêt.*

*En témoignage de profonde gratitude et de
respectueux attachement.*

A MONSIEUR ROBERT GOUTAREL
Directeur de recherches au C. N. R. S.

*Qui m'a initié à la chimie végétale, m'a guidé
dans mon travail et n'a cessé de me faire profiter
de sa grande expérience.*

Hommage de profonde et affectueuse gratitude.

A MES PARENTS

En témoignage de ma profonde affection.

A TOUS LES MIENS ET A MES AMIS

INTRODUCTION

L'importante famille botanique des Apocynacées est, à l'heure actuelle, une de celles dont l'étude chimique retient le plus l'attention des laboratoires spécialisés du monde entier.

Ceci est dû à la grande richesse et à la grande variété des principes actifs, dont les principaux sont :

- les glucosides cardiotoniques,
- les alcaloïdes indoliques,
- les alcaloïdes stéroïdiques.

Le laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de Paris, sous la direction de M. le Professeur M.-M. JANOT, s'est consacré à l'étude chimique des alcaloïdes et, depuis trente ans bientôt, plus particulièrement à l'étude des alcaloïdes des Apocynacées.

Les résultats obtenus dans ce domaine ont été importants, tout d'abord dans le groupe des alcaloïdes indoliques et, depuis ces dernières années, dans le groupe des alcaloïdes stéroïdiques.

Dans le cadre de l'étude systématique des espèces de la famille des Apocynacées MM. M.-M. JANOT et R. GOUTAREL ont bien voulu me confier l'étude des feuilles de l'*Holarrhena floribunda* DUR. et SCH.

Le plan adopté dans l'exposé de ce travail sera le suivant :

A. — PARTIE THÉORIQUE.

- Généralités botaniques sur le genre *Holarrhena*.
- Historique des différents alcaloïdes des *Holarrhena*.
- Nomenclature des alcaloïdes stéroïdiques des Apocynacées.
- Travaux personnels.
 - Extraction des alcaloïdes.
 - Groupe de l'adénine.
 - Détermination de la structure de la triacanthine.
 - Synthèse de la triacanthine et des dérivés de substitution sur les différents atomes d'azote de l'adénine.
 - Groupe du pregna-5-ène.
 - Structure de l'holaphylline.

- Structure de l'holaphyllamine.
- Structure de l'holamine.
- Synthèse de l'holaphylline, de l'holaphyllamine et de l'holamine : introduction en position 3 d'une fonction aminée dans les stéroïdes Δ -5-insaturés.

B. — PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Conclusion.

Bibliographie.

Je ne saurais commencer mon exposé sans remercier :

- M. J. RENARD, Directeur de l'Omnium Chimique (Bruxelles) et
M. J. MAINIL, Chef de Laboratoire, qui m'ont aimablement
procuré la matière première nécessaire à ce travail,
M. le Professeur V. PRELOG, Directeur du Laboratoire de Chimie
organique et
M. M. W. MANSER, Directeur du Laboratoire de microanalyse de
l'Ecole Polytechnique Fédérale de Zurich,
M. R. LÉVY, Directeur du service de microanalyse du C. N. R. S. et
M^{lle} MULLER, Chef du Laboratoire de microanalyse à l'Institut des
substances naturelles de Gif-sur-Yvette,
M. le Professeur J. GUY, M^{me} HOUELLE et M. HESPEL, pour l'exécution
des spectres infrarouges,
M^{lle} B. TCHOUBAR, Directeur de recherches au C. N. R. S., pour l'aide
apportée à l'étude du mécanisme des réactions,
M. DENAYER, de l'Union chimique belge, pour notre collaboration
au sujet de la triacanthine,
M. J. PARELLO,
M^{me} C. CONREUR,
M^{me} L. CHAMPERBAUD.

Je tiens aussi à exprimer à tous les membres du Laboratoire de
Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de Paris et des
Laboratoires de l'Institut des Substances Naturelles de Gif-sur-
Yvette ma reconnaissance pour le concours qu'ils m'ont apporté :

- M. J. LE MEN, Professeur à l'Ecole de Médecine et de Pharmacie de
Reims,
M. A. LE HIR, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris.
M. J. POISSON, Maître de conférences,
M. M. ROBBA, Maître de conférences,
M^{mes} et M^{lles} M. CHOIX, J. GOSSET, C. KHAN, F. KHUONG-LAINÉ, L. OLI-
VIER, M. PAIS, M. PLAT,
MM. R. BEUGELMANS, P. DEVISSAGUET, M. GUT, F.-X. JARREAU,
Q. KHUONG, M. LEBŒUF, J. LÉVY, P. LONGEVIALLE, X. LUSINCHI,
M. PLAT, P. POTIER, J.-P. PRINCE, F. PUISIEUX.

PARTIE THÉORIQUE

I. — GÉNÉRALITÉS BOTANIQUES

Le genre Holarrhena.

Le genre *Holarrhena* a été créé en 1809 par le botaniste écossais Robert BROWN (16), à la suite de l'examen d'un échantillon de la « Banskian collection », originaire de l'Inde, appelé « *Carissa mitis* » par VAHL et KÖNIG et nommé *Holarrhena antidysenterica*. L'auteur classe ce nouveau genre dans la famille des Apocynacées.

En 1844, DE CANDOLLE (28) signale une espèce africaine du genre *Holarrhena*, qu'il nomme *Holarrhena africana*. Or, quelques années auparavant, en 1834, G. DON (33) avait décrit sous le nom de *Rondeletia floribunda* un arbuste buissonnant originaire du Sierra-Leone, qu'il classait dans la famille des Rubiacées. En 1849, à la suite d'un examen comparé des deux espèces, W. J. KOOKER (64) conclut à leur identité. DURAND et SCHINZ (35) puis CHEVALIER (23) décidèrent de conserver le nom d'*Holarrhena floribunda*.

Le genre *Holarrhena* est classé dans la sous-famille des Plumerioïdées. Cette sous-famille est caractérisée par des anthères libres et non appendiculées, des carpelles distincts et une graine nue. Le fruit est une baie ou une drupe. Mais le genre *Holarrhena* diffère par la présence de deux follicules et d'une graine chevelue.

C'est pourquoi DE CANDOLLE et STAPF rattachent ce genre aux Echitoïdées, qui possèdent deux ovaires distincts, deux follicules et des graines chevelues à la partie supérieure. Mais ici, les étamines sont entièrement adhérentes au stigmate, alors que, chez les *Holarrhena*, les anthères sont libres.

PICHON a établi une classification (108) pour les différents genres de la famille des Apocynacées.

Elle est divisée en trois sous-familles :

- les Cerberoïdées,
- les Echitoïdées,
- les Plumerioïdées.

Il est à noter à ce propos — en examinant la monographie de BISSER (13), qui a étudié plus spécialement les Apocynacées à alcaloïdes — que la sous-famille des Cerberoïdées est démunie de plantes à alcaloïdes.

Les Echitoïdées renferment presque tous les genres à alcaloïdes stéroïdes, en particulier les genres *Funtumia*, *Malouetia*, *Chone-morpha*, *Kibatalia*, *Paravallaris*, à l'exception du genre *Holarrhena* et d'une espèce du genre *Conopharyngia* (*C. pachysiphon*), classés dans les Plumerioïdées.

Les Plumerioïdées renferment presque tous les genres à alcaloïdes indoliques, le genre *Conopharyngia* possédant lui aussi des espèces à alcaloïdes indoliques.

Les *Holarrhena* sont de petits arbres, arbustes ou buissons, originaires des régions tropicales de l'Asie ou de l'Afrique et de Java, perdant leurs feuilles en saison sèche. Les feuilles sont entières, opposées, ovales ou oblongues, un peu membraneuses. Les fleurs, d'après BAILLON, sont groupées en cymes blanches terminales ou axillaires ; calice à cinq pétales, libres ou connés à la base, étroits, imbriqués en arc possédant souvent quelques glandes à leur base ; corolle hypocrateriforme, à tube étroit, parfois dilaté, le limbe possède cinq lobes oblongs tournés vers la droite. Les étamines sont incluses à la base du tube, anthères aux sommets libres à filets longs et basifixes. Deux carpelles libres, multiovulés ; style grêle, long, fusiforme, libre de l'androcée. Fruits composés à deux follicules allongés, incurvés, à pointe émoussée. Très nombreuses graines comprimées en long ou concaves, médifixes couronnées d'une aigrette de poils au sommet. Albumen réduit ou absent. Embryon charnu à cotylédons repliés.

Différentes espèces d'Holarrhena.

Le genre *Holarrhena* se trouve à l'intérieur de la sous-famille des *Plumerioïdées*, dans la tribu des *Alstoniées* et la sous-tribu des *Holarrhinées*.

Il est lui-même subdivisé en deux sections :

- *Euholarrhena*, à lobes du calice tous glanduleux,
- *Alepis*, à lobes du calice non glanduleux.

Dans la section *Euholarrhena*, se trouvent cinq ou six espèces du bas-Congo et de l'Asie tropicale. L'espèce principale est l'*Holarrhena antidyssenterica* WALL.

Les espèces africaines sont l'*Holarrhena febrifuga* KLOTZSCH et l'*Holarrhena congolensis* STAPF. Toutefois, ce dernier est rangé dans la section *Alepis* par PICHON et confondu avec l'*Holarrhena floribunda* DUR. et SCHINZ par CHEVALIER (23).

La section *Alepis* contient un nombre très variable d'espèces suivant les auteurs.

M^{re} A. SCHMIT (122) distingue *H. congolensis* STAPF, *H. wulfsbergii* STAPF, *H. ovata* A. DC., *H. floribunda* DUR. et SCHINZ.

PICHON réduit le nombre des espèces et rattache *H. wulfsbergii* STAPF à *H. floribunda* DUR. et SCHINZ.

AUBREVILLE (1), HUTCHINSON et DALZIEL (68) n'en conservent que deux.

CHEVALIER, quant à lui, ne conserve qu'une seule espèce dans la section *Alepis* et réunit toutes les espèces précédemment citées sous le nom d'*Holarrhena floribunda*.

CHEVALIER note les considérables variations suivant l'endroit de la végétation et signale que, comme toutes les plantes soumises aux feux de brousse, les *Holarrhena* présentent de nombreuses mutations.

Principaux types d'Holarrhena floribunda.

Dans sa thèse de Doctorat d'Etat en pharmacie, M^{lle} A. SCHMIT fait une étude très détaillée de l'*Holarrhena floribunda*.

Trois types sont distingués. L'*Holarrhena* est un arbre d'aspect polymorphe suivant le pays et le terrain, ce qui l'a fait classer en différentes espèces. Il est rencontré sous forme de :

- Grand arbre à fût droit : arbre des galeries forestières.
- Arbre nouveau et contourné : arbre des collines et des plateaux.
- Buissons : rejets de souche.

Les feuilles sont ovales, opposées, entières, à nervures très sail-lantes ; les fleurs sont blanches, odorantes, petites et groupées en corymbes terminaux et axillaires. Les sépales sont velus, les pétales soudés en tube s'évasent en cinq lobes.

Les fruits sont composés de deux follicules accouplés, légèrement incurvés, pouvant mesurer jusqu'à cinquante centimètres. Ils renferment des graines fusiformes, aplaties, de un centimètre, surmontées d'une aigrette de poils fauves.

Les feuilles jaunissent vers janvier et février, tombent en mars. Les nouvelles feuilles poussent en avril, époque de la floraison, laquelle peut s'étendre jusqu'en août.

2. — TRAVAUX ANTÉRIEURS

Les alcaloïdes stéroïdes étaient classiquement répartis en trois grands groupes (59) (97) (39) (95).

1. Les alcaloïdes des *Solanum*.
2. Les alcaloïdes des *Veratrum*.
3. Les alcaloïdes des *Holarrhena*.

Il convient maintenant d'élargir ce troisième groupe et de le nommer : *alcaloïdes stéroïdiques des Apocynacées* (46).

En effet, jusqu'à ces dernières années, tous les alcaloïdes des Apocynacées dont la structure était de nature stéroïde faisaient partie du genre *Holarrhena*.

Depuis quelques années, l'étude systématique des espèces de la famille a été entreprise, particulièrement dans les laboratoires de M. le Professeur JANOT et il a été démontré que de nombreux genres

renfermaient des alcaloïdes stéroïdiques, surtout dans la sous-famille des Echitoïdées (47).

La première étude chimique du genre *Holarrhena* a été faite par HAINES en 1858 sur l'*Holarrhena antidysenterica* WALL. (51). Il isole des écorces un produit azoté qu'il appelle néréine.

En 1864, à partir des graines, STENHOUSE prépare la wrightine, probablement identique à la néréine.

Un an après, HAINES (52) propose de changer le nom de néréine pour le nom de *conessine*, qui sera désormais utilisé.

Dans ces premiers travaux les extractions se font par lixiviation de la poudre par de l'eau chlorhydrique. Les rendements sont peu élevés.

WARNECKE, en 1866 (150), obtient le premier la conessine à l'état cristallisé. Il utilise encore le nom de wrightine. Son extraction met à profit les solubilités dans l'alcool et l'éther de pétrole. Par la suite, nombre d'auteurs obtiennent la conessine à divers degrés de pureté (112) (18) (82) (83).

Durant la même période on commence aussi à étudier l'*Holarrhena floribunda*. D'après L. PLANCHON (110) la première étude chimique fut entreprise par FAUST et ABICH, qui en retirent un alcaloïde impur.

Cet alcaloïde fut étudié au point de vue physiologique par KEIDEL (85), puis préparé à l'état pur par POLSTORFF et SCHIRMER (112) (113), qui l'identifient à la *conessine*. La présence de *conessine* est confirmée en 1918 par ULRICI (147), puis par GIEMSA et HALBERKANN (45) ; ces derniers retirent 0,7 à 0,8 % de conessine dans les écorces et les graines et trouvent 0,5 % d'alcaloïdes mineurs.

HENRY et BROWN (60) obtiennent aussi de la conessine, ainsi que J. L. SIMONSEN (82) en 1926.

C'est à cette époque que l'on voit utiliser pour les extractions et l'isolement des alcaloïdes, les différences de solubilité dans l'éther et l'éther de pétrole pour séparer *conessine* et *holarrhénine* des autres produits dans l'*Holarrhena congolensis* STAPF (114) ainsi que l'insolubilité des oxalates pour isoler la conessine (HENRY et BROWN ; KANGA, AYAR et SIMONSEN).

Les travaux de GHOSH et de GHOSH et BOSE (43) (44) en 1928 et 1932 ouvrent une seconde phase. Ces auteurs améliorent le rendement de l'extraction en la faisant par le mélange ammoniaque, éther, chloroforme et en utilisant l'insolubilité des tartrates et des sulfates pour séparer les alcaloïdes. Ils obtiennent 1,2 % de bases dans les écorces d'*Holarrhena antidysenterica* et arrivent à isoler deux nouveaux alcaloïdes en plus de la conessine, la *kurchicine* et la *kurchine*, qui forment la majorité des alcaloïdes contenus dans les écorces.

HAWORTH, en 1932 (53), utilise la formation des oxalates pour isoler la conessine et par distillation des alcaloïdes résiduels obtient une autre base, huileuse, qui est une *norconessine*.

Mais cette période est surtout marquée par les travaux de SIDDIQUI et de ses collaborateurs, qui de 1932 à 1945 (126 à 138)

mettent au point de nouvelles méthodes permettant de séparer la conessine des différentes norconessines ainsi que de nouvelles bases, *conamine*, *holarrhimine*, *holarrhine*.

Pour leurs extractions ces auteurs mettent à profit l'insolubilité de certains sulfates dans l'eau et les solubilités variables des carbonates dans l'éther de pétrole.

Les rendements obtenus par SIDDIQUI, en alcaloïdes totaux dans les écorces, sont de 1,7 à 2,2 %.

En 1934, SIDDIQUI isole des graines (128) en plus de la conessine, et de l'holarrhimine, l'*isoconessimine* et la *conimine*.

En 1935 (130), la *conamine* et la *conarrhimine*.

Entre temps, PEACOCK et CHOWDHURY (107) isolent la *lettocine* qui s'avère par la suite être un mélange.

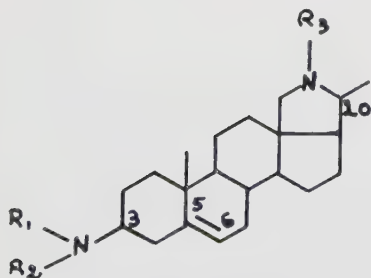
Parallèlement, un groupe de chercheurs, en Allemagne, sous la direction de BERTHO, en 1933, extraient des écorces de l'*Holarrhena antidysenterica*, la *conessidine*, la *conkurchine*, la *kurchenine* (8) ; en 1939, ils isolent la *kurchine* et la *conkurchinine*. Cette dernière est mal définie et donne, par hydrolyse, la *conkurchine*.

En 1946, IRANI (69) prépare, à partir des graines, 1,4 % d'un *glucoalcaloïde* cristallisé. Par hydrolyse avec de l'acide picrique, il obtient des picrates de conessine et d'une base phénolique, à côté de galactose.

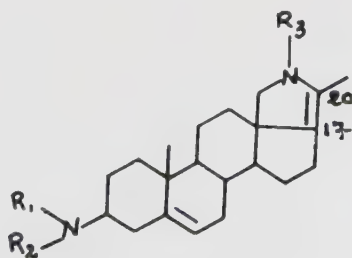
Durant ces dernières années, TSCHESCHE et ses collaborateurs (145) (146) ont continué l'étude des alcaloïdes des *Holarrhena*, en utilisant les nouvelles méthodes de recherche et de séparation, en particulier les chromatographies sur colonne et sur papier. Ils obtiennent les alcaloïdes précédemment isolés, conessine, conessidine, conessimine, holarrhessimine, conimine, puis, en 1956, la *triméthylconkurchine*, la *conamine* (145) et, en 1958, la *kurchamine*, la *tetraméthylholarrhimine* et les *monométhylholarrhimines I et II* naturelles.

A la suite de ces travaux, ils classent les alcaloïdes des *Holarrhena* en trois groupes.

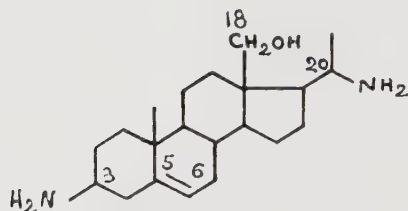
1. Type conarrhimine.
2. Type conkurchine.
3. Type holarrhimine.



type conarrhimine



type conkurchine



holarrhimine

En 1957, LABLER et CERNY (88) isolent un isomère *en 3* de l'holarrhimine, l'*holarrhidine*.

Durant cette période, l'*Holarrhena floribunda* DUR. et SCHINZ fut étudié à partir de 1938 par PARIS (104) (105), qui travaille sur les écorces de Seouloù, en provenance du Sénégal. Il utilise différents procédés d'extraction des alcaloïdes totaux et obtient des rendements de 2 % dans les écorces de racine et 0,8 à 1,5 % dans les écorces de tige. Les alcaloïdes bruts ont été fractionnés en utilisant les différences de solubilité des oxalates et des tartrates dans l'alcool, des sulfates dans l'eau et des carbonates dans l'éther de pétrole. PARIS a isolé à l'état cristallisé, dans les racines et les tiges, de la conessine dans la proportion d'au moins 50 % des alcaloïdes totaux, un alcaloïde soluble dans l'éther de pétrole de point de fusion : 92°, vraisemblablement identique à la *conessimine* ; dans les écorces de racines, un alcaloïde insoluble dans l'éther de pétrole, de point de fusion : 216-8° ; dans les tiges, 0,1 à 0,15 % une base voisine de l'holarrhénine et de l'holarrhine. En outre, PARIS caractérise des alcaloïdes insolubles dans l'éther de pétrole du groupe de l'holarrhénine, de la kurchicine et de la kurchénine ; des alcaloïdes donnant des carbonates insolubles dans l'éther de pétrole à bas point de fusion, du groupe de la kurchine et de la conessimine ; des alcaloïdes donnant des sulfates insolubles dans l'eau, du groupe de l'holarrhine et de l'holarrhimine.

En somme, le travail de PARIS se résume à la mise en évidence :

— d'une part, d'environ 50 % de conessine dans les alcaloïdes totaux ;

— d'autre part, de la présence probable de nor-alcaloïdes et d'alcaloïdes oxygénés du groupe de l'holarrhimine et de l'holarrhénine.

En 1950, M^{re} A. SCHMIT (122) reprend les travaux de PARIS et confirme les résultats de celui-ci. Bien que l'étude chimique des alcaloïdes isolés à l'état d'entité chimique n'ait été faite que pour la conessine, M^{re} SCHMIT démontre la présence, dans les écorces d'*Holarrhena floribunda* DUR. et SCHINZ, de l'*isoconessimine*, la *conessimine*, la *conkurchine*, l'*holarrhénine* et l'*holarrhimine*. D'après M^{re} SCHMIT, les écorces de racines contiennent 2,58 à 3,08 % d'alcaloïdes totaux et les écorces de tronc 1,24 à 2,10 % ; les feuilles, 0,06 à 0,3 %. La proportion de conessine dans ces alcaloïdes totaux est généralement de l'ordre de 50 %, alors que dans l'*Holarrhena*

antidysenterica WALL., elle est de l'ordre de 20 à 30 %. Dans son travail, elle envisage 13 procédés différents d'extraction, basés sur les techniques antérieures et finalement propose, comme procédé idéal, une lixiviation par l'alcool ammoniacal suivie d'une séparation sous forme de sulfates insolubles dans l'eau, puis une séparation des carbonates solubles dans l'éther de pétrole. Elle note, en particulier, la difficulté des extractions par les solutions acides, en raison de la faible solubilité des sels dans l'eau.

En 1958, ROSTOCK et SEEBECK reprennent les travaux sur les écorces de l'*Holarrhena floribunda* DUR. et SCHINZ. Ils font la revue des alcaloïdes isolés jusque-là et citent 13 alcaloïdes de structure connue, dont 9 non oxygénés des groupes de la conarrhimine et de la konkurchine et 4 alcaloïdes oxygénés (118).

TABLEAU n° 1

Type conarrhimine				Type konkurchine			
	R 1	R 2	R 3		R 1	R 2	R 3
Conarrhimine	H	H	H	Conkurchine	H	H	H
Conimine	CH ₃	H	H				
Conamine	H	H	CH ₃				
Conessimine	CH ₃	CH ₃	H				
Isoconessimine ...	CH ₃	H	CH ₃	Conessidine	CH ₃	H	CH ₃
Conessine	CH ₃	CH ₃	CH ₃	Triméthyl konkur- chine	CH ₃	CH ₃	CH ₃

Ils isolent deux nouveaux alcaloïdes oxygénés, qui sont des alcaloïdes esters, l'*holafrine* et l'*holarrhétine* aux teneurs de 0,056 à 0,06 % ; ce sont des esters de l'acide pyrotérébique et de la 12 β -hydroxyconessimine et de l'holarrhenine.

A partir de 1958, trois espèces d'*Holarrhena* ont été étudiées dans les laboratoires de M. le professeur JANOT.

— Les feuilles de l'*Holarrhena floribunda* DUR. et SCHINZ, qui font l'objet de ce travail et dont 4 alcaloïdes nouveaux ont été isolés : *holaphylline*, *holaphyllamine*, *holamine* et un alcaloïde de structure non stéroïde mais purique, la *triacanthine*.

— Les feuilles d'*Holarrhena antidysenterica* WALL par LONGEVIALLE et dont il a été isolé cinq nouveaux alcaloïdes dont la structure n'est pas encore établie : l'*holadysine*, l'*holadysamine*, la *kurchiline*, la *kurchilidine* et la *kurchiphylline* (47) (N. P.).

— Les feuilles et les écorces de l'*Holarrhena febrifuga* KLOTZSCH par M^{me} CONREUR et R. GOUTAREL, dont il a été extrait, à côté de conessine, un nouvel alcaloïde, l'*holafebrine* (48), qui est le 3 β -hydroxy-20 α -amino-pregna-5-ène.

Les structures des alcaloïdes des *Holarrhena* ont été déterminées principalement par trois groupes de chercheurs :

R. D. HAWORTH et ses collaborateurs, en Angleterre,
A. BERTHO et ses collaborateurs, en Allemagne,

ces deux groupes s'étant surtout attachés à déterminer la structure de la conessine et des alcaloïdes non oxygénés du groupe de la conanine,

SORM, LABLER et CERNY, en Tchécoslovaquie,

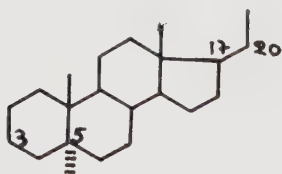
dont les travaux ont surtout porté sur les alcaloïdes oxygénés du groupe de l'holarrhimine.

Toutes les méthodes d'extraction de ces alcaloïdes et les déterminations de structure ont été passées en revue et étudiées en détail par M. R. GOUTAREL, dans son livre *Alcaloïdes stéroïdiques des Apocynacées* actuellement sous presse.

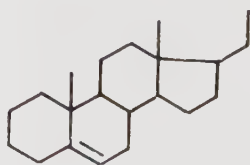
A cette occasion et à la suite des travaux effectués dans les laboratoires de M. le professeur JANOT, sur les alcaloïdes stéroïdes du genre *Holarrhena* et d'autres genres de la famille des Apocynacées, travaux qui ont permis d'extraire et de démontrer la structure d'autres stéroïdes aminés plus simples, il a été nécessaire d'élargir la classification établie par TSCHESCHE et ROY (145).

1. Groupe du 5 α -pregnane.
2. Groupe du pregna-5-ène.
3. Groupe de la conanine.

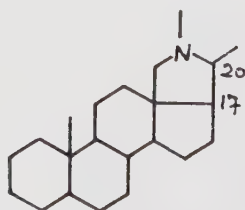
Le terme de conanine a été introduit par HAWORTH et MICHAËL (58) pour désigner le squelette commun aux alcaloïdes du groupe de la conessine.



pregna-5-ène



5 α -pregnane



conanine

ALCALOÏDES STÉROÏDES DES APOCYNACÉES

Nom et formule brute	Structure	Origine	F	(α) _D	Réf.
1 — GROUPE DU 5 α -PREGNANE.					
Chonemorphine $C_{23}H_{42}N_2$	3-3-amino- 20 α -diméthylamino-	<i>Chonemorpha fragrans</i>	149°	+ 25° C	(21) (22)
Funtumafrine B $C_{22}H_{37}ON$	3-oxo- 20 α -méthylamino-	<i>Funtumia africana</i>	160°	+ 43° C	(74)
Funtumafrine C $C_{23}H_{39}ON$	3-oxo- 20 α -diméthylamino-	<i>Funtumia africana</i>	174°	+ 45°	(74)
Funtumidine $C_{21}H_{37}ON$	3 α -amino- 20 α -hydroxy-	<i>Funtumia latifolia</i>	182°	+ 10°	(71)
Funtumine $C_{21}H_{35}ON$	3 α -amino- 20-oxo-	<i>Funtumia latifolia</i>	126°	+ 95°	(71)
Funtuphyllamine A $C_{21}H_{37}ON$	3 β -hydroxy- 20 α -amino-	<i>Funtumia africana</i>	173°	+ 13°	(74)
Funtuphyllamine B $C_{22}H_{39}ON$	3 β -hydroxy- 20 α -méthylamino-	<i>Funtumia africana</i>	214°	+ 24°	(74) (76)
Funtuphyllamine C $C_{23}H_{41}ON$	3 β -hydroxy- 20 α -diméthylamino-	<i>Funtumia africana</i>	172°	+ 24°	(74)
Malouétine $C_{27}H_{52}N_2^{++}$	3 β -20 α -bis-triméthyl- ammonium-	<i>Malouetia bequertiana</i>	254° picr.	+ 3° E Cl ⁻	(76)
Malouphylline $C_{24}H_{40}O_2N_2$	3 β -acétamino 18-al 20 α -diméthylamino-	<i>Malouetia bequertiana</i>	259°	+ 10°	(76) (77)
2 — GROUPE DU PREGNA-5-ÈNE.					
Glucocalcoïde	3 β -hydroxy- 20 α -amino-	<i>Conopharyngia Pachysiphon</i>			(31)
Holafebrine $C_{21}H_{35}ON$	3 β -hydroxy- 20 α -amino-	<i>Holarrhena febrifuga</i>	177°	— 61°5 C	(48)
Holamine $C_{21}H_{33}ON$	3 α -amino- 20-oxo-	<i>Holarrhena floribunda</i>	135°	+ 23° C	(73)
Holaphyllamine $C_{21}H_{33}ON$	3 β -amino- 20-oxo-	<i>Holarrhena floribunda</i>	320° Cl ⁻	+ 20° M Cl ⁻	(72)
Holaphylline $C_{22}H_{35}ON$	3 β -méthylamino- 20-oxo-	<i>Holarrhena floribunda</i>	128°	+ 23° C	(72)
Holarrhidine $C_{21}H_{36}N_2O$	3 α -20 α -diamino- 18-hydroxy-	<i>Holarrhena antidysent.</i>	180°	— 23°	(88)
Holarrhimine $C_{21}H_{36}N_2O$	3 β -20 α -diamino- 18-hydroxy-	<i>Holarrhena antidysent.</i>	186°	— 11°	(146) (149)
Monométhyl holarrhimine I $C_{22}H_{38}N_2O$	3 β -méthylamino-18-hydro- xy-20 α -amino-	<i>Holarrhena antidysent.</i>	360°	— 28° M	(146)
Monométhyl holarrhimine II $C_{22}H_{38}N_2O$	3 β -amino-18-hydroxy- 20 α -méthylamino-	<i>Holarrhena antidysent.</i>	164°	— 19° C	(146)
Tetraméthyl holarrhimine $C_{25}H_{44}N_2O$	3 β -20 α -tetraméthyl- 18-hydroxy-	<i>Holarrhena antidysent.</i>	218-25°	— 35°	(146)
Kibataline	= Holafebrine	<i>Kibatalia arborea</i>			

ALCALOÏDES STÉROÏDES DES APOCYNACÉES (suite)

Nom et formule brute	Structure	Origine	F	(α) _D	Réf.
Paravallaridine C ₂₂ H ₃₄ O ₃ N	3β-méthylamino-16α-hydroxy-20-hydroxy-18-oïque lactone (18-20)	<i>Paravallis microphylla</i>	231°	— 52°	(11)
Paravallarine C ₂₂ H ₃₃ O ₂ N	3β-méthylamino-20-hydroxy-18-oïque lactone (18-20)	<i>Paravallis microphylla</i>	181°	— 52°	(90)
3 — GROUPE DE LA CONAMINE.					
Conamine C ₂₂ H ₃₆ N ₂	3β-amino-Δ-5	<i>Holarrhena antidyse</i>	97-101°	— 21° C	(145)
conarrhimine C ₂₁ H ₃₄ N ₂	3β-amino-20-déméthyl-Δ-5	»			(119)
conessidine C ₂₂ H ₃₄ N ₂	3β-méthylamino-Δ 5-Δ 17 N-déméthyl-	»	125°	— 49 E	(119)
conessimine C ₂₃ H ₃₈ N ₂	3β-diméthylamino-Δ5 N-déméthyl-	»	100°	— 22° C	(119)
conessine C ₂₄ H ₄₀ N ₂	3β-diméthylamino-Δ-5-	<i>Holarrhena divers</i>	127°	+ 21° E	(10) (145) (151)
conimine C ₂₂ H ₃₆ N ₂	3β-méthylamino-Δ-5-N-déméthyl-	»	133°	+ 27° E	(145)
Conkurchine C ₂₁ H ₃₂ N ₂	3β-amino-Δ-5-Δ-17-N-déméthyl-	»	153°	+ 44° E	(119)
Triméthyl konkurchine C ₂₄ H ₃₈ N ₂	3β-diméthylamino-Δ-5-17-	»	125-8°	+ 12°	(145)
Holafrine C ₂₉ H ₄₆ O ₂ N ₂	Ester de l'acide pyrotérébique du 3β-diméthylamino-12-hydroxy-N-déméthyl Δ 5-	<i>Holarrhena floribunda</i>	117°	+ 19° C	(118) (146)
Holarrhenine C ₂₄ H ₃₆ ON ₂	3β-diméthylamino Δ 5-12-hydroxy-		198°	— 7° C	(119) (149)
Holarrhetine C ₃₀ H ₄₈ ON ₂	Ester de l'acide pyrotérébique du 3β-diméthylamino-12-hydroxy Δ-5-	<i>Holarrhena floribunda</i>	75°	— 4°5 E	(118) (146)
Isoconessimine C ₂₃ H ₃₈ N ₂	3β-méthylamino Δ-5-		88-92°	+ 30° E	(126)
Latifoline	3β-hydroxy-Δ-5-	<i>Funtumia latifolia</i>			(47)
4 — GROUPE DES ALCALOÏDES DE STRUCTURE NON ENCORE ÉTABLIE.					
Holadysamine		<i>Holarrhena antidyse</i>			(47)
Holadysine		»			(47)
Kurchilidine		»			
Kurchiline		»			
Kurchiphylline		»			

TRAVAUX PERSONNELS

EXTRACTION DES ALCALOÏDES DES FEUILLES DE *L'HOLARRHENA FLORIBUNDA*

Une étude chimique des feuilles de cette espèce d'*Holarrhena* n'avait pas, à notre connaissance, été entreprise jusqu'alors. M^{lle} A. SCHMIT y avait effectué un dosage des alcaloïdes (122). Elle ne donne pas de technique spéciale d'extraction et obtient un total alcaloïdique de 0,06 à 0,35 %.

En 1958 nous avons entrepris l'étude des feuilles d'*Holarrhena floribunda*. Après de nombreux essais, la technique d'extraction adoptée est la suivante :

Les feuilles pulvérisées sont humectées par de l'ammoniaque et une solution de carbonate de sodium. La poudre est extraite au Soxhlet par du chlorure de méthylène. La solution obtenue après élimination complète du chlorure de méthylène, donne un résidu qui est repris par du méthanol acétique à 10 %.

L'abaissement à 60° du degré alcoolique, par addition d'eau, provoque une précipitation de produits non alcaloïdiques, chlorophylles, terpènes (acide ursolique), stérols.

Après alcalinisation par l'ammoniaque et dilution à l'eau, la solution d'acétates d'alcaloïdes est extraite par l'éther de pétrole. Les alcaloïdes insolubles dans l'éther de pétrole sont ensuite extraits par le chlorure de méthylène ; ceci donne une première séparation en :

- *Bases A*, alcaloïdes insolubles dans l'éther de pétrole,
- *Bases B*, alcaloïdes solubles dans l'éther de pétrole.

Traitement de la fraction A.

L'addition d'une solution méthanolique d'acide oxalique, à la solution dans le chlorure de méthylène des bases brutes, amène la cristallisation d'oxalates d'alcaloïdes, insolubles dans le chlorure de méthylène.

1. — *Oxalates insolubles*

Leur décomposition, conduit à un mélange de bases extrait par le chlorure de méthylène.

Au cours de la concentration des liqueurs d'extraction, la *triacanthine* cristallise.

Le résidu est soumis à une filtration sur alumine qui permet de séparer, suivant l'époque de récolte des feuilles,

- uniquement de l'*holamine*,
- de l'*holamine* en majeure partie avec de petites quantités d'*holaphylline*,
- de l'*holaphylline* et des alcaloïdes non isolés, aux époques où la teneur en *holamine* est nulle.

2. — *Oxalates solubles*

Les alcaloïdes correspondant à cette fraction n'ont pas été étudiés.

Traitement de la fraction B.

Ces bases sont, soit filtrées, soit chromatographiées sur alumine. Lorsque les feuilles ont été récoltées à l'époque où la teneur en *holamine* est nulle, la filtration sur alumine suffit.

L'élution par le benzène permet de séparer l'*holaphylline*.

L'élution par l'éthanol, l'*holaphyllamine*, obtenue cristallisée sous forme de chlorhydrate.

Quand l'époque de récolte est différente, la chromatographie permet de séparer :

- l'*Holaphylline*, éluee par l'éther,
- l'*Holamine*, éluee par le mélange éther-éthanol ââ,
- l'*Holaphyllamine*, éluee par l'éthanol.

Les teneurs en alcaloïdes totaux sont de l'ordre de 1,4 à 2,1 %.

La composition varie beaucoup suivant l'époque de récolte des feuilles.

La teneur en *triacanthine*, importante au mois d'avril, décroît au cours de l'année, pour devenir nulle vers le mois de novembre.

Seule, l'*holaphylline* est toujours présente dans la plante.

L'*holamine*, absente au début de saison, voit sa teneur augmenter et atteindre 75 % des alcaloïdes isolés, pendant que diminue la teneur en *holaphyllamine*, cette dernière disparaissant complètement de la plante quand la teneur en *holamine* est maximum.

GROUPE DE L'ADÉNINE

LA TRIACANTHINE

1° Structure.

En 1959, dans une première publication (72), nous avons signalé la présence, dans les feuilles d'*Holarrhena floribunda*, à côté d'alcaloïdes stéroïdiques, d'une aminopurine de formule brute $C_{10}H_{13}N_5$, dénommée *togholamine*. Ce nom avait été donné parce que, sur plusieurs échantillons d'origines diverses, étudiés, seul celui en provenance du Togo en contenait. Par la suite la togholamine fut retrouvée dans des feuilles d'autre origine et il fut remarqué que la teneur en togholamine ne dépendait pas de l'endroit mais de l'époque de la récolte.

Quelque temps après, deux chimistes belges, MONSEUR et ADRIENS (100) isolaient d'une plante de la Côte d'Ivoire, appartenant à la famille des Légumineuses Césalpiniées, *Chidlovia sanguinea* HOYLE, un alcaloïde dénommé *chidlovine* de formule brute $C_{10}H_{13}N_5$. Celui-ci s'avéra être identique à la togholamine.

L'étude de la structure était commencée, lorsque parut en 1960 dans le *Journal of the American Chemical Society*, un travail de LEONARD et DEYRUP sur la structure de la *triacanthine* (91).

La triacanthine a été retirée des feuilles du *Gleditsia triacanthos* L., plante de la famille des Légumineuses Césalpiniées, la première fois par BÉLIKOV et ses collaborateurs (6). La formule $C_8H_{10}N_4$ lui avait été assignée.

Les travaux ayant été repris sur cette base par LEONARD et DEYRUP, ils rectifient la formule en donnant $C_{10}H_{13}N_5$ et proposent comme structure celle d'une 7 γ,γ diméthylallyl-6-aminopurine (92).

A la suite de cette publication, nous sommes entrés en relation avec LEONARD et DEYRUP. L'identité de la triacanthine, de la togholamine et de la chidlovine (20) est établie, mais pour une structure de 3 γ,γ diméthylallyl-6-aminopurine.

Le nom de triacanthine étant le plus ancien, c'est celui qui est retenu (la triacanthine vient d'être isolée, également, des feuilles d'*Holarrhena febrifuga*).

La teneur en triacanthine est très variable dans les feuilles suivant l'époque de la récolte.

Les feuilles poussent en avril, mois du début de la floraison, qui se poursuit jusqu'en août. Les feuilles jaunissent et tombent en février-mars.

TABLEAU n° 2

Teneurs en triacanthine en fonction de l'époque

Début avril	0,38 %
Fin avril	0,56
Avril (Togo)	0,22
Juin (Côte d'Ivoire)	0,11
Septembre	0,02
Décembre	0,01
Mars	0

Ces variations suivant les saisons ne sont pas spécifiques de l'*Holarrhena floribunda*. Elles ont aussi été notées pour le *Gleditsia triacanthos*. BELIKOV note un pourcentage variant de 0,7 à 0,02 % en fonction du vieillissement.

La triacanthine est une base cristallisée, blanche, de point de fusion F : 232°, peu soluble dans les solvants usuels, bien soluble dans le mélange méthanol-chlorure de méthylène.

De formule brute $C_{10}H_{13}N_5$,

poids moléculaire déterminé par titrage potentiométrique : 204,22, pK'a 5,08 (M.C.S.) ; 5,4 (D.M.F./H₂O).

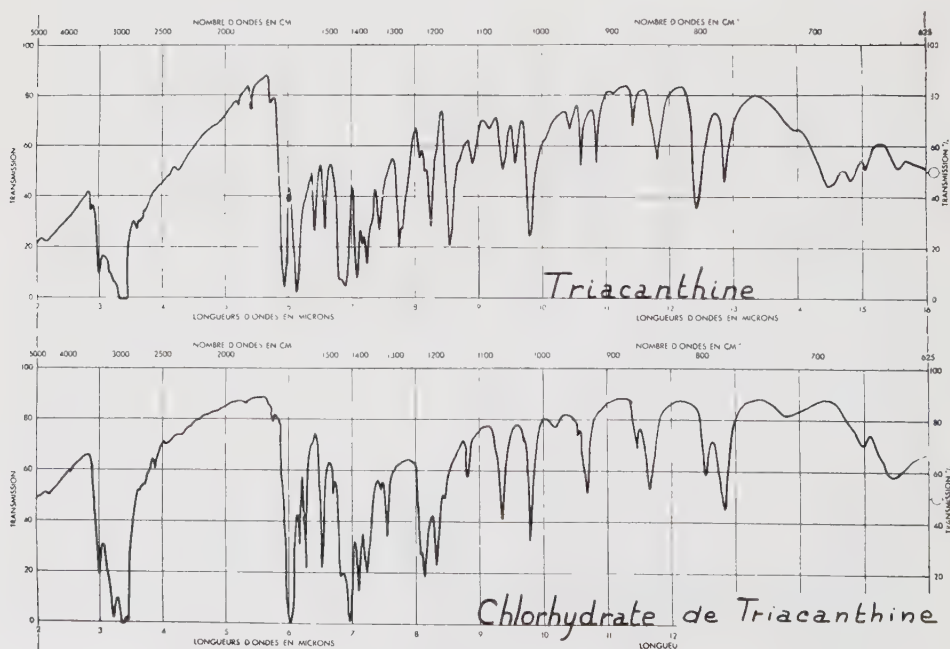


FIG. 1 et 1 bis

Le spectre infrarouge (figure n° 1) présente à 3 236 cm⁻¹ une bande qui correspond à une vibration NH et à 1 373 cm⁻¹ une vibration due à une liaison C = N.

Le spectre ultraviolet (figure n° 2) possède un maximum qui varie selon le pH :

pH	max.	log ϵ
acide	276 m μ	4,21
neutre	273 m μ	4,12
alcalin	275 m μ	3,97

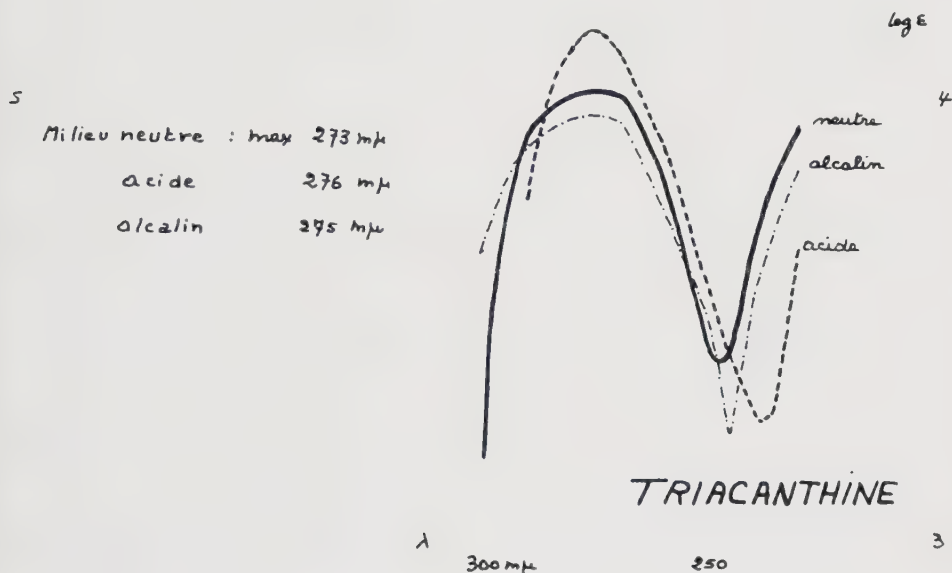


FIG. 2

L'étude du spectre ultraviolet sera reprise en détail par la suite.

Le spectre de masse de la triacanthine (LEONARD et DEYRUP), montre un pic

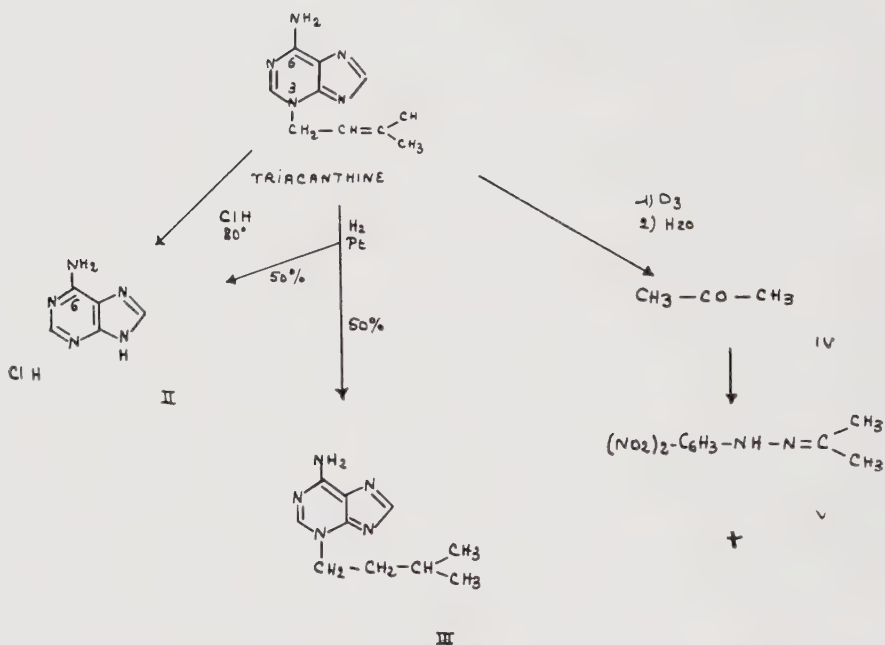
- à 203 confirmant le poids moléculaire,
- à 188 établissant la présence d'au moins un groupe méthyle
(203 — 188 = 15),
- à 135 correspondant au noyau aminopurine.

A. — Structure du noyau

La présence du noyau 6-aminopurine est facilement prouvée par l'hydrolyse chlorhydrique qui donne naissance à du chlorhydrate d'adénine, II.

Cette hydrolyse permet donc d'établir que la triacanthine possède un noyau 6-aminopurine, c'est-à-dire $C_5H_5N_5$ avec une chaîne latérale en C_3H_9 .

La triacanthine donne un iodométhylate cristallisé. Ceci tend à prouver la présence d'un azote basique tertiaire.



B. --- Structure de la chaîne latérale

Cette structure est démontrée par :

- 1) hydrogénation catalytique ;
- 2) ozonolyse ;
- 3) Examen du spectre R. M. N.

1. — Hydrogénation catalytique de la triacanthine.

L'agitation sous atmosphère d'hydrogène en présence de platine réduit conduit à deux produits :

— l'un, III, extractible par les solvants organiques, $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5$ est une dihydrotriacanthine ;

— l'autre, II, reste dans la phase aqueuse au cours de l'extraction. De formule $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_5$, il est identique à l'adénine. La caractérisation est faite par le chlorhydrate et le picrate qui ont les mêmes point de fusion et spectre infrarouge que les chlorhydrate et picrate d'adénine naturelle.

Cette coupure de la chaîne, en milieu acétique au cours de l'hydrogénation, permet de suggérer la présence d'une chaîne de type allylique rattachée à un azote.

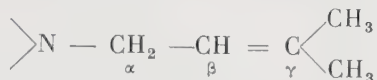
La présence de cette chaîne explique, de surcroît, la facilité de la coupure en milieu acide chlorhydrique (27).

2. — Ozonolyse.

La solution de triacanthine dans l'acide acétique est traitée par un courant d'oxygène ozonisé. L'ozonide formé est détruit par hydrolyse.

L'entraînement à la vapeur permet de séparer un composé carbonylé dont la 2-4-dinitro-phénylhydrazone, V : $C_6H_3O_4N_4$ est analogue par son point de fusion et son spectre infrarouge à la 2-4-dinitrophénylhydrazone de l'acétone.

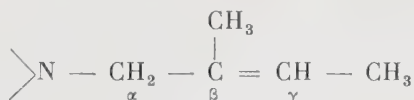
La formation d'acétone prouve la présence d'un radical isopropyle en α de la double liaison, dans la chaîne latérale.



LEONARD et DEYRUP (92) après ozonolyse obtiennent l'acétaldéhyde caractérisé par sa 2-4-dinitrophénylhydrazone.

Mais la méthode utilisée diffère. Après formation de l'ozonide dans le méthanol acétique, ce composé est détruit par réduction au zinc acétique.

Dans les mêmes conditions, l'ozonolyse de la 6-amino-3 β , γ -diméthylallyl-purine, obtenue de synthèse, donne comme principal produit l'acétone caractérisée par sa 2-4-dinitrophénylhydrazone.



Il apparaît donc que dans la méthode utilisée par LEONARD, ce sont les carbones α et β qui vont donner après désamination réductive l'acétaldéhyde ou l'acétone.

La fraction d'ozonolyse correspondant au carbone γ , donnant de l'acétone, selon notre procédé, disparaît au cours de la réduction effectuée par LEONARD.

3. — Examen du spectre R. M. N.

Pour pallier l'insolubilité de la triacanthine dans le chloroforme, le spectre de résonance magnétique nucléaire a été effectué sur le chlorhydrate de triacanthine en solution dans l'eau lourde (figure n° 3).

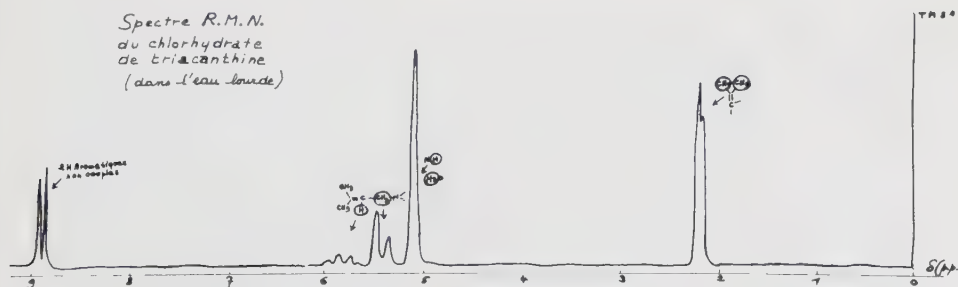


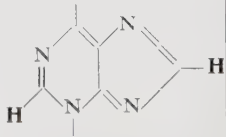
FIG. 3

LEONARD et DEYRUP ont tout d'abord examiné le spectre R. M. N. de la benzyltriacanthine, qui présente sur la triacanthine l'avantage d'être soluble dans le chloroforme. Cet examen a amené ceux-ci à conclure que l'adénine ne pouvait être substituée qu'en 7 ou en 9 et ils concluent à la position 7 après examen des spectres U. V.

L'examen du spectre R. M. N. montrait, par ailleurs, la présence d'un groupe gem-diméthyl ($\delta = 1,86$) attaché à une double liaison. Le standard de référence était celui des 5 protons du groupe benzyl à $\delta = 7,23$.

Les résultats de l'examen du spectre du chlorhydrate de triacanthine dans l'eau lourde sont consignés dans le tableau ci-dessous.

TABLEAU n° 4

Protons trouvés	Nature et position du signal	Attribution
6,0	2,2 ppm, signal multiple (pratiquement confondu en un singulet) prouvant la non-équivalence des 2 gem-méthyles.	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{C} = \text{C} - \text{H} \\ \diagdown \\ \text{CH}_3 \end{array}$
2,84	5,14 ppm, singulet. L'échange des protons liés à l'azote, est très rapide avec D ₂ O et les signaux correspondants fusionnent en un seul.	$\begin{array}{l} \text{NH} + 1/2 \text{ D}_2\text{O} \\ \text{ND} + 1/2 \text{ H}_2\text{O} \end{array}$
2,04 0,80	5,42 ppm, doublet 5,75 ppm, quadruplet (24) système AB ₂ , $\frac{\delta\nu}{J} = 2,6$ $\delta\nu = (5,75 - 5,42) 60 \sim 20$ cps $J = 7,6$ cps (valeurs trouvées pour la triacanthine).	$\begin{array}{c} \text{N} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \\ = \text{CH} - \text{CH}_2 \end{array}$
2,0	8,9 et 8,95 ppm, 2 singulets correspondant aux protons cycliques.	

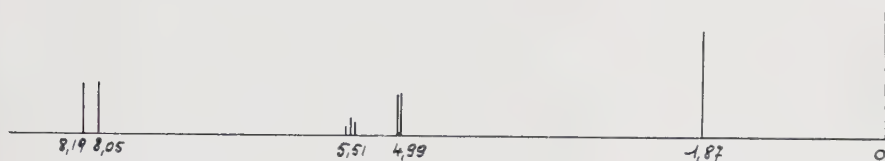
LEONARD a effectué le spectre R. M. N. de la triacanthine dans SO₂ liquide, ce qui donne à peu de chose près les mêmes renseignements mais les protons du chlorhydrate de triacanthine, comparés à ceux du spectre de la base, sont déplacés vers les champs faibles, ce qui est dû à ce que la référence au tétraméthyl silane est externe dans l'eau lourde et interne dans les autres solvants.

Ainsi, la présence d'une chaîne γ,γ -diméthylallyle liée à un atome d'azote de la molécule d'adénine est parfaitement démontrée.

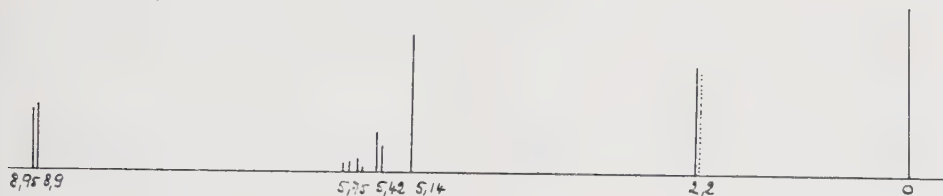
TABEAU N° 5

Spectres R. M. N.

Triacanthine dans SO₂ liquide



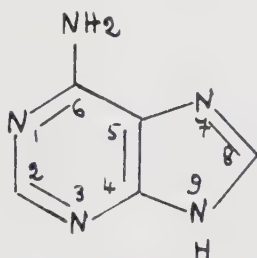
Chlorhydrate de triacanthine dans l'eau lourde



C. — Enchaînement sur le noyau adénine

L'emplacement de la chaîne latérale sur le noyau adénine ne peut être prouvé par les réactions de dégradation.

Celles-ci permettent d'éliminer les positions 2 et 8, puisque la chaîne est liée à l'adénine par un atome d'azote.



Adénine

La position 6 est éliminée : la triacanthine (9) traitée en tube scellé par de la benzylamine et du chlorhydrate de benzylamine, conduit par une réaction d'échange, à une N-benzyl-triacanthine, ce qui semble prouver la liberté du groupe NH₂ de l'adénine dans la triacanthine (152).

L'enchaînement a été prouvé,

1° par les méthodes physiques :

A. — Examen des spectres ultraviolets.

B. — Examen des pK'a.

2° par la synthèse.

A. — *Examen des spectres ultraviolets*

Aux différents pH, l'emplacement et l'intensité des maximums d'absorption dans l'ultraviolet sont variables suivant la position de la substitution par un alcoyle sur les différents atomes d'azote de la molécule d'adénine.

TABLEAU n° 6
Spectres U. V. et points de fusion des dérivés de l'adénine

Nom	F	U. V.			
		H ⁺ _{max}	ε	OH ⁻ _{max}	ε
1-méthyl-adénine	276-8°	259	11.700	270	14.400
2-méthyl					
3-méthyl	300-268°	274	15.900	273	12.800
3-benzyl	273°	275		274	
3-furfuryl	245°	276	17.500	274	12.500
3γ, γ-diméthylallyl	230°	275	17.500	273	13.800
6-méthyl	312-4°	267	14.900	272	15.200
6-furfuryl (kinétine)	266°	274	17.000	275	17.600
6-diméthyl		276		282	
6-piperidino		280		285	
6 γ, γ-diméthylallyl		260		263	
7-méthyl	351°	272	15.050	270	10.500
7-benzyl	234°	275		274	
7-cyclopentyl	242°	273		272	
7 γ, γ-diméthylallyl	194°	274		273	
8-méthyl	300°	269	13.400	266	14.900
8 γ, γ-diméthylallyl		281		294	
9-méthyl	310°	260	14.200	260	14.700
9-éthyl	194-5°	264		260	
9 γ, γ-diméthylallyl		260		263	

De l'examen de ce tableau il résulte que peuvent être éliminées les positions 1 et 9 dont les maximums, en milieu acide et alcalin, sont toujours très différents des maximums observés pour la triacanthine.

Par contre, ces maximums concordent avec l'hypothèse d'une substitution en 3 ou en 7.

Mais une étude de la courbe d'absorption dans l'ultraviolet et non plus seulement des maximums, permet de remarquer certaines caractéristiques reproductibles pour des dérivés substitués sur le même azote.

Les points isosbestiques.

Les rapports d'absorption 280 mμ/260 mμ.

Les points isosbestiques correspondent aux longueurs d'onde pour lesquelles les absorptions sont identiques, quel que soit le pH.

L'examen des courbes (fig. 4 et 5) et du tableau n° 7 où les résultats sont consignés, fait ressortir que,

Les dérivés de l'adénine substitués en 7 possèdent trois points isosbestiques situés à des longueurs d'onde de l'ordre de 221, 235 et 255 mμ.

Les rapports d'absorption aux λ 280/260 sont de l'ordre de :

1,05 en milieu acide,
0,85 en milieu alcalin.

Les dérivés de l'adénine substitués en 3.

Deux points isosbestiques à des longueurs d'onde de l'ordre de 240 et 282 m μ .

Les rapports d'absorption 280/260 sont de l'ordre de :

1,30 en milieu acide,
1,45 en milieu alcalin.

Les points isobestiques de la triacanthine sont à 240 et 282 m μ .

Les rapports d'absorption 1,32 et 1,47.

Ces chiffres permettent de conclure à la position 3 pour l'enchaînement de la chaîne γ,γ -diméthyllallyl sur l'adénine.

TABEAU n° 7

Dérivés de l'adénine	F	pK'a	λ	ϵ	$\frac{\epsilon_{280}}{\epsilon_{260}}$	Points isosbestiques
7-méthyl	345°	3,5	H ⁺ 272 OH ⁻ 270	13,8 10,5	1,02 0,87	221, 232, 251
7-benzyl	234°	3,4	H ⁺ 274 OH ⁻ 272		1,09 0,87	221, 235, 250
7-cyclopentyl.....	242°		H ⁺ 273 OH ⁻ 272	13,150 10,170	1,06	222, 235, 253
7 γ,γ -diméthyllallyl	194°	3,3	H ⁺ 274 OH ⁻ 273	12,600 10,300	1 0,77	223, 235, 251
3-benzyl	273°		H ⁺ 275 OH ⁻ 274			240, 283
3-furfuryl	245	5,3	H ⁺ 276 OH ⁻ 274	17,500 12,500	1,42 1,43	240, 283
3 γ,γ -diméthyllallyl	230	5,45	H ⁺ 277 OH ⁻ 277	18 13	1,32 1,47	240, 282
triacanthine	230		277 273	18,3 12,5	1,32 1,47	240, 282

Les spectres U. V. sont effectués au spectrophotomètre UNICAM en solution aqueuse à une concentration d'environ 10 γ /ml.

H⁺, dans HCl N/10
OH⁻, dans NaOH N/100.

LEONARD et DEYRUP utilisent une autre caractéristique des spectres ultraviolets pour la différenciation des dérivés substitués en « 3 » ou en « 7 ».

La différence entre les longueurs d'onde minimum à pH 1 et à pH 7 est positive pour les dérivés substitués en 7 et en 9 et négative pour les dérivés substitués en 3 (cf. fig. 4 et 5).

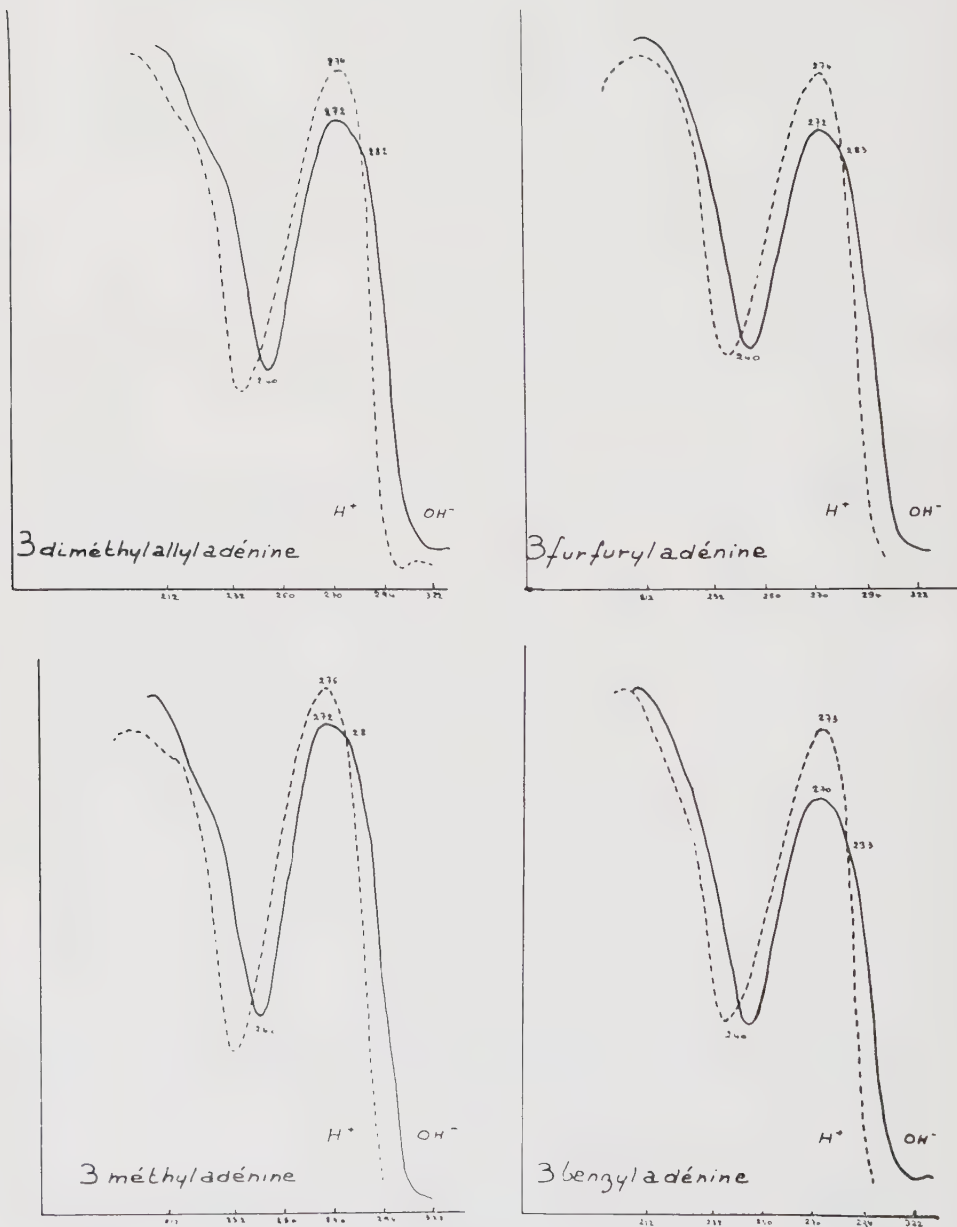


FIG. 4

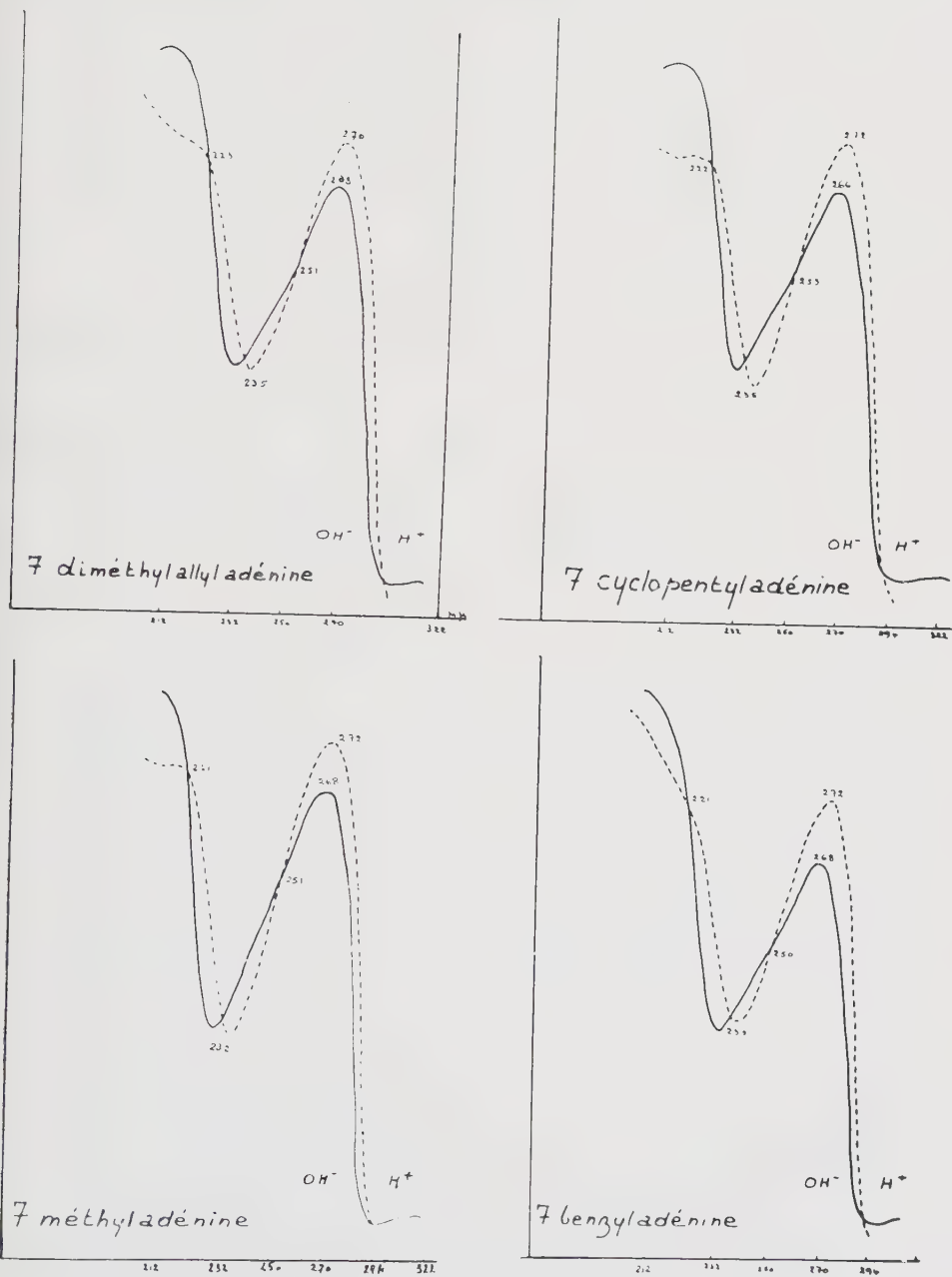


FIG. 5

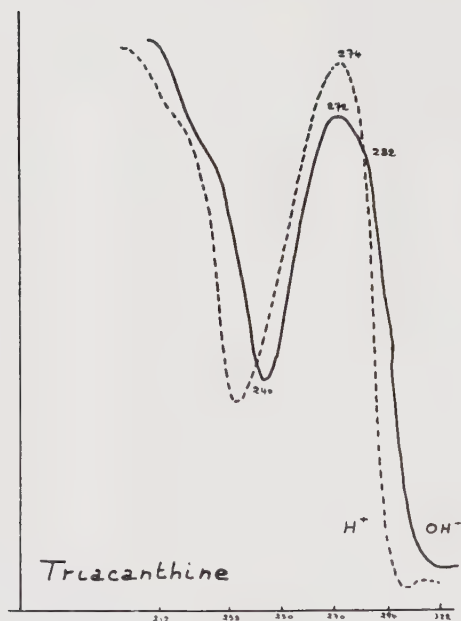


FIG. 6

EXAMEN DU pKa.

La présence d'un pKa dans la région de 8 à 11 indique la présence d'un groupe NH dans le cycle imidazole de l'adénine substituée. Un tel pK suggère donc que le cycle imidazole n'est pas substitué et que la substitution porte sur un des autres atomes d'azote de la molécule. C'est le cas de la kinétine, dérivé 6-substitué qui possède un pKa de 10.

L'absence d'un tel pK pour la triacanthine peut donc faire conclure hâtivement une substitution en 7 ou en 9 sur le noyau adénine.

LEONARD et DEYRUP examinent les pK des dérivés de l'adénine et remarquent que seules sont connues les cinq méthyladénines :

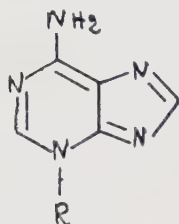
	pKa
1-méthyladénine	6,95 et 11,9 (D. M. F. 50 %).
3-méthyladénine	5,3
6-méthylaminopurine ...	10 (valeur trouvée pour la kinétine)
7-méthyladénine	3,6 (7 D ribofuranoside : 3,3)
9-méthyladénine	3,25 (adénosine : 2,8)

Les valeurs trouvées dans les mêmes conditions sont :

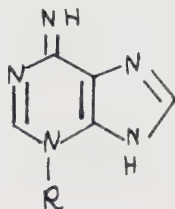
5,4 pour la triacanthine,
5,2 pour la dihydrotriacanthine.

Il apparaît donc que le pK trouvé pour la triacanthine est pratiquement celui d'un dérivé substitué en position 3 et s'écarte notablement de celui des dérivés substitués en 7.

D'autre part, l'absence de pK dans la région de 10, fait préférer pour les dérivés substitués en 3 la formule de type A à une formule de type B.



type A



type B

Après examen de ces propriétés physiques, la structure d'une 3 γ , γ -diméthylallyl-6-amino-purine peut être attribuée avec certitude à la triacanthine.

Une preuve supplémentaire est fournie par la synthèse.

2° Synthèse de la triacanthine.

La synthèse de la triacanthine et de ses isomères a été abordée par LEONARD et DEYRUP qui, par action du bromure de γ , γ -diméthylallyle sur l'adénine en solution dans l'éthanol à -10° et en présence d'un équivalent de sodium, obtiennent un mélange de dérivés substitués en 9 et en 3.

La quantité de dérivé 3 apparaît prépondérante (65 %) et ces deux produits sont séparés soit par chromatographie des dérivés N-benzyl, soit par chromatographie directe du produit de condensation de l'adénine avec le bromure de γ , γ -diméthylallyle.

Si l'allylation est faite par addition d'une solution de sel de sodium de l'adénine à une solution étherée de chlorure de γ , γ -diméthylallyle à -70° , c'est le dérivé 7 qui est obtenu, avec un très faible rendement. Ce composé est soluble dans le chloroforme et insoluble en milieu alcalin.

La détermination de structure de ces produits est effectuée à l'aide de leurs pK et de leurs spectres ultraviolets.

Il est évident que ces synthèses n'apportent aucune confirmation de la structure de la triacanthine.

Ces synthèses directes semblent dépendre étroitement de l'influence du solvant, de facteurs stériques, du métal utilisé et d'une infinité d'autres facteurs, de sorte qu'il semble difficile de diriger une synthèse appropriée vers tel ou tel dérivé de substitution.

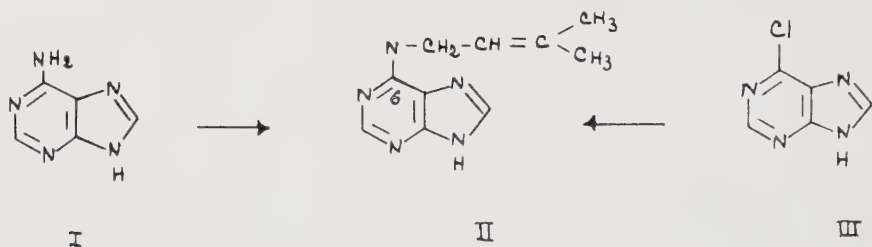
Avec la collaboration de R. DENAYER, nous avons cherché des

méthodes nous permettant de préparer, de façon univoque la triacanthine et ses différents isomères (30).

— La 6 γ,γ -diméthylallyl-adénine, II.

Facilement préparée par échange fonctionnel d'un groupement aminé entre la γ,γ -diméthylallylamine et le chlorhydrate d'adénine, I, en tube scellé.

Préparée aussi par action sur la 6-chloro-purine, III, de la γ,γ -diméthylallylamine.



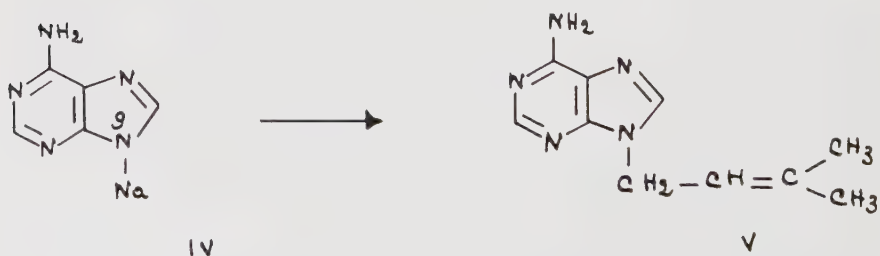
— La 9 γ,γ -diméthylallyl-adénine, V.

Préparée par action de bromure de diméthylallyle sur le dérivé sodé de l'adénine, IV, en solution dans le diméthylformamide.

C'est la même réaction qui, dans l'éthanol à -10° , a permis à LEONARD d'obtenir le mélange des dérivés 3 et 9.

En travaillant dans le diméthylformamide à la température ambiante, il n'y a pas eu formation de dérivé 3.

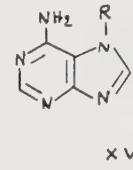
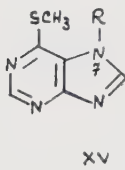
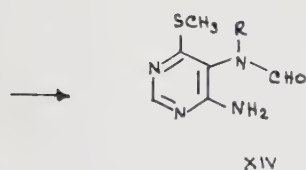
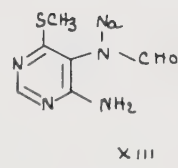
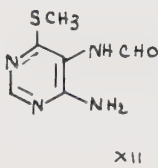
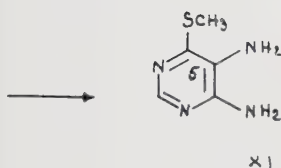
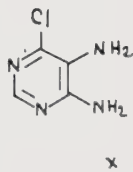
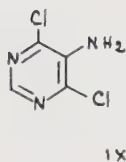
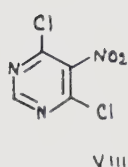
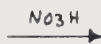
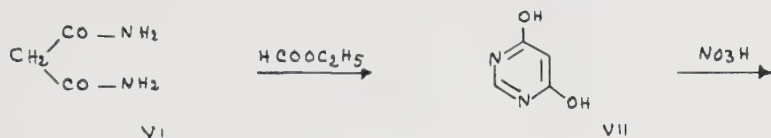
La 9 γ,γ -diméthylallyl-adénine, V, est séparée sous forme de chlorhydrate très peu soluble.



— La 7 γ,γ -diméthylallyl-adénine, XVI, est obtenue par 2 procédés.

En 1961, MONTGOMERY et HEWSON (102) ont décrit une méthode permettant de préparer des dérivés de la purine substitués en 7 et portant en 6 un substituant Cl, S-CH₃ ou CH₂-C₆H₅. La 6-méthyl-mercato 7-diméthylallyl-purine est préparée d'après cette technique, suivant le schéma suivant :

TABLEAU N° 8



La 4-5-diamino-6-méthyl-mercato-pyrimidine, XI, peut être formylée en 5 et le formamide obtenu sodé par l'hydrure de sodium en solution dans le diméthylformamide, réagit avec le bromure de γ,γ -diméthylallyle (tableau n° 8 : R = γ,γ -diméthylallyle) pour donner la pyrimidine substitué, XIV. La cyclisation, difficile à cause du groupe mercapto, peut être réalisée par chauffage dans l'anhydride acétique.

Le dérivé 6-méthyl-mercato, XV, chauffé 2 heures à 160° dans une solution aqueuse d'ammoniaque, conduit à la 7 γ,γ -diméthylallyl-adénine, XVI.

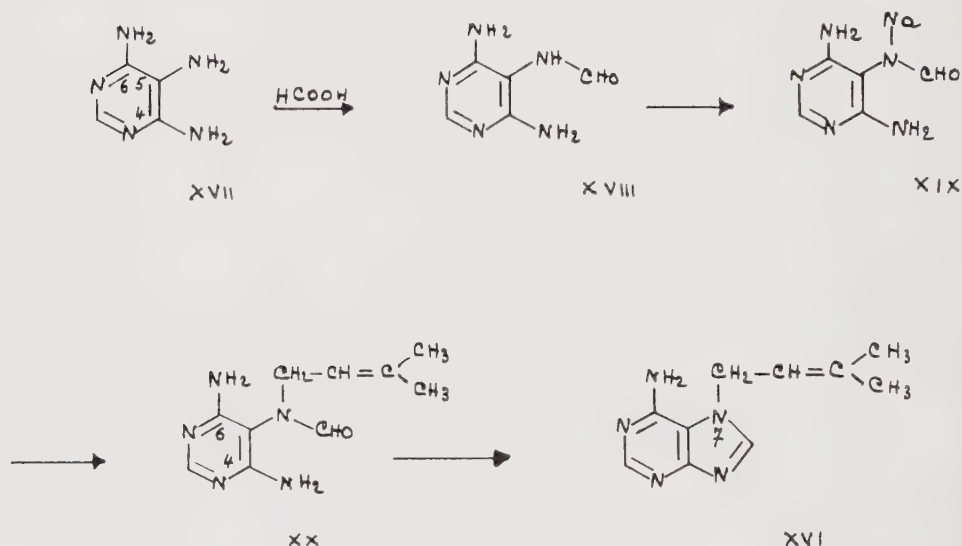
Le second procédé est plus intéressant, car il a permis de découvrir une méthode de préparation univoque des dérivés substitués en 7 ou en 3.

La matière première est la 4-5-6-triamino-pyrimidine, XVII, facilement accessible par synthèse (19).

Le chauffage dans l'acide formique mène à la 4-6-diamino-5-formamido pyrimidine, XVIII, constituant en somme la même matière première que dans la synthèse de Montgomery, à ceci près que la purine est substituée en 6 par un groupe NH₂.

La 4-6-diamino-formamido-pyrimidine, XVIII, en solution dans le diméthylformamide, est sodée par l'hydrure de sodium (XIX). Un chauffage de 3 heures à 70° en présence de bromure de γ,γ -diméthylallyle, amène la formation d'un précité cristallin de 4-6-diamino-5- γ,γ -diméthylallyl formamido pyrimidine, XX.

Ce produit peut être cyclisé, par chauffage à 220°, dans la diéthanoline, et conduit à la 7 γ,γ -diméthylallyl adénine attendue, XVI.



Ce procédé a permis de préparer un certain nombre d'autres dérivés en 7 tels que les méthyl, benzyl, furfuryladénine.

— La 3 γ,γ -diméthylallyl-adénine, XXIV ($\text{R} = \gamma,\gamma$ -diméthylallyle) (*triacanthine*) est également préparée à partir de la 4,5,6-triamino-pyrimidine, XVII, qu'une formylation transforme en 4,6-diamino-5-formamido-pyrimidine, XVIII. La voie utilisée qui se caractérise par une remarquable simplicité et par d'excellents rendements est la suivante :

Après alcoylation directe par le bromure de γ,γ -diméthylallyle, l'alcalinisation de la solution au moyen de KOH à 5 % donne naissance à une base ammonium quaternaire (en effet, le produit identique obtenu par passage de la solution de l'halogénure sur résine échangeuse d'ions montre une forte basicité). Un simple chauffage de cette base ammonium quaternaire provoque la précipitation d'un produit cristallin qui n'est autre que la triacanthine.

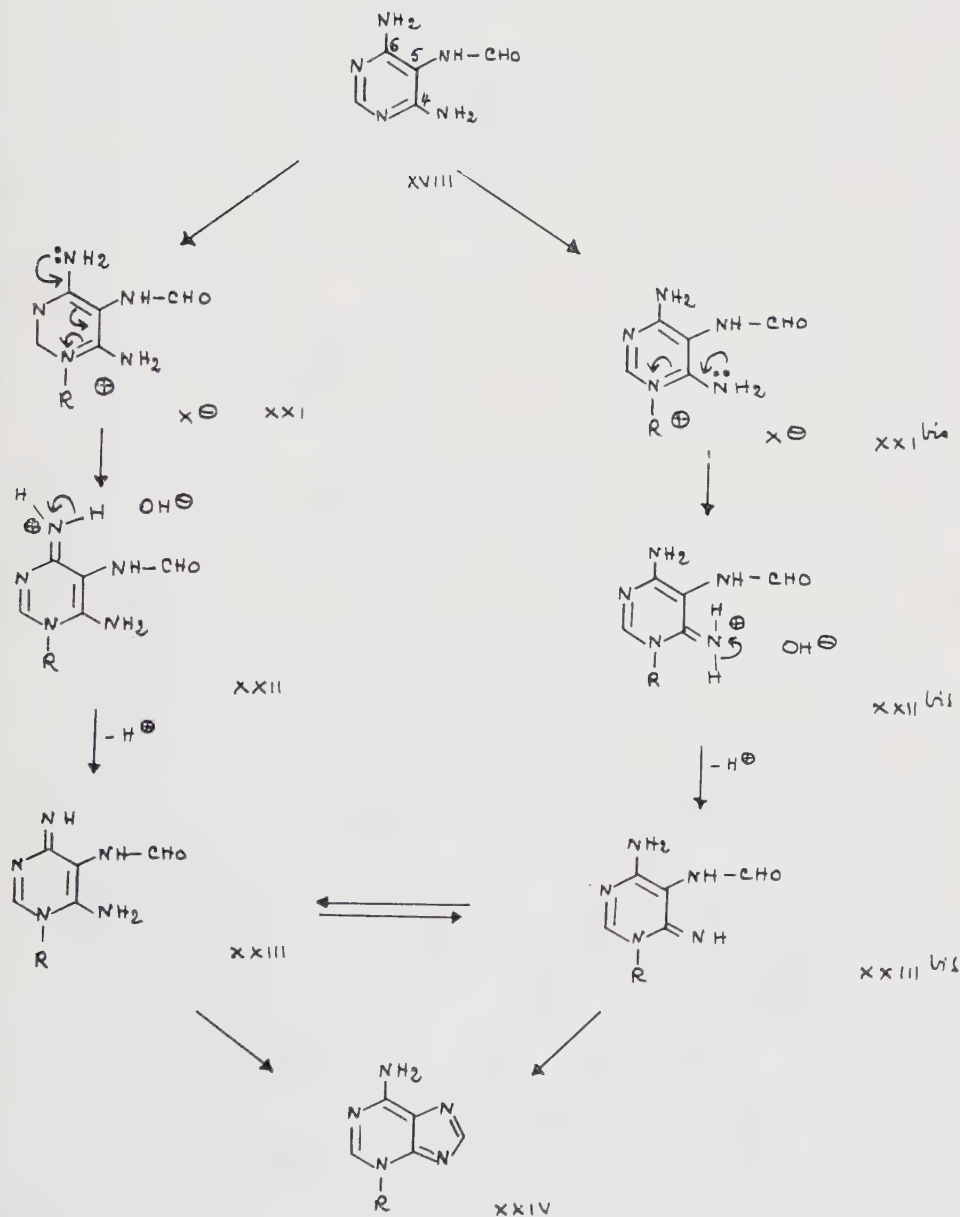
Des réactions parallèles ont été menées au moyen de divers halogénures d'alcoyle, et en particulier le bromure de méthyle conduisant à la 3-méthyl-adénine dont la structure est bien établie.

Si l'on considère que le radical diméthyl-allyle s'est fixé sur le noyau pyrimidinique, en position 3 tout comme le radical méthyle,

cette synthèse de la triacanthine confirme en toute certitude la structure de cet alcaloïde.

Cependant, l'étude approfondie du mécanisme de ces réactions permet à elle seule de parvenir à ces conclusions.

TABLEAU N° 9.



FORMYLATION.

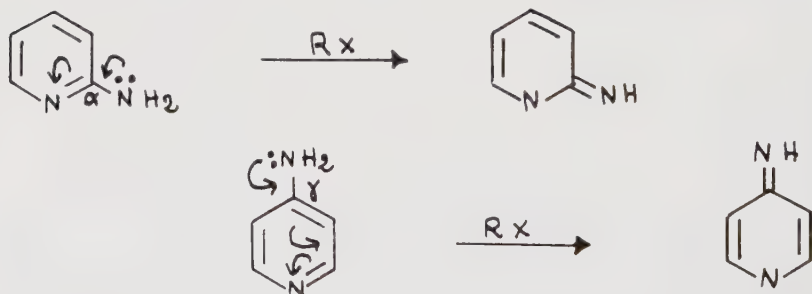
Le groupement aminé en 5 de la 3,4,5-pyrimidine étant le seul à présenter un caractère aromatique, il est logique de penser que la formylation initiale intéressera ce seul groupement. En effet les deux autres radicaux NH_2 sont compris chacun dans un groupement amidine dont la réactivité est comparable à celle d'un amide.

ALCOYLATION.

Il faut penser que l'alcoylation directe de la 4,6-diamino-5-formamido-pyrimidine, XVIII, par un halogénure d'alcoyle conduit aux halogénures XXI et XXI bis, de diamino-formamido-pyrimidinium substitués sur les atomes d'azote intracycliques.

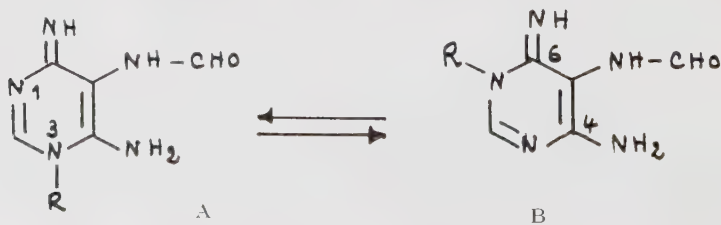
Ce fait est à rapprocher de l'alcoylation des α et γ aminopyridines (qui présentent également un enchaînement amidine) conduisant aux α et γ pyridone-imines substituées sur l'azote pyridinique (49). Une telle substitution est en effet initiée par le transfert partiel sur ce dernier atome d'azote du doublet libre du groupement amine primaire.

Ce transfert n'est pas réalisable dans le cas des β -amino-pyridines dans lesquelles le groupement NH_2 conserve son caractère aromatique ; les β -amino-pyridines *ne sont pas susceptibles* de N-substitution dans les conditions où les α et γ amino-pyridines le sont.



Dans le cas de la diamino-formamido-pyrimidine, les deux atomes d'azote intracyclique sont en ortho et para des deux groupements amine primaire, et tout concourt à une alcoylation en 1 ou en 3.

La formation des composés alcoylés se fait très vraisemblablement par l'intermédiaire des sels d'ammonium quaternaires XXI et XXI bis (tableau n° 9) dont les bases ammonium quaternaires correspondantes, XXII et XXII bis, perdent facilement un proton pour conduire aux bases tertiaires XXIII et XXIII bis, qui sont alcoylées respectivement en position 1 et 3.



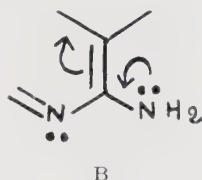
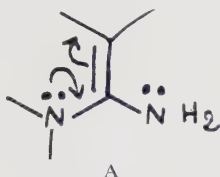
Il est remarquable de constater cependant que, du fait de la symétrie de la molécule, les deux formules XXIII et XXIII *bis* correspondent en fait à deux formes tautomères du même dérivé.

CYCLISATION.

La cyclisation de la forme tautomère A devrait conduire à une adénine substituée en 3, et celle de la forme tautomère B à une adénine substituée en 1.

Or, l'excellent rendement de la réaction de cyclisation montre son caractère pratiquement univoque.

Il faut donc chercher dans l'environnement immédiat des groupements NH_2 la raison qui introduit une dissymétrie entre les 2 formes A et B.



Dans la forme A comme dans la forme B, le groupement aminé susceptible de réagir est compris dans un enchaînement enamine. Le doublet p de chacun des atomes d'azote du groupement NH_2 est donc, dans les deux cas, conjugué au doublet π de la double liaison $\text{C} = \text{C}$, ce qui doit conduire à une diminution de la mobilité de ce doublet p .

En d'autres termes, la basicité de l'atome d'azote doit être diminuée dans chacun des groupements amine primaire, qui se trouveront ainsi plus ou moins désactivés.

Dans le cas B, l'enchaînement enamine est lié à un atome d'azote faisant lui-même partie d'un enchaînement $— \text{N} = \text{C}$, dont le doublet p , rendu ainsi peu mobile, aura peu tendance à participer au transfert électronique. La désactivation du groupement NH_2 juxta-nucléaire par la double liaison $\text{C} = \text{C}$ reste ici effective.

Par contre, dans le cas A, un système enamine identique est lié à un atome d'azote intracyclique faisant, lui, partie d'un groupement amine tertiaire assez fortement basique. Le doublet p de ce dernier atome d'azote est susceptible d'entrer en compétition avec le doublet p du groupement NH_2 juxta-nucléaire, si bien que la fonction amine primaire est peu désactivée et conserve en grande partie sa basicité. C'est donc cette dernière forme (A) qui est susceptible de réagir le plus rapidement au cours de la réaction de cyclisation, ce qui justifie le caractère univoque de la réaction conduisant au dérivé substitué en 3.

GROUPE DU PREGNA-5-ÈNE

L'HOLAPHYLLINE

L'holaphylline, I, $C_{23}H_{35}ON$, F : 123° , $(\alpha)_D + 24^{\circ}$ ($CHCl_3$) est une base forte (pKa : 9,10), pouvant donner lieu à la formation d'un monochlorhydrate, $C_{23}H_{35}ON$, ClH.

Le spectre infrarouge (fig. n° 7) de la base, laisse suspecter la présence :

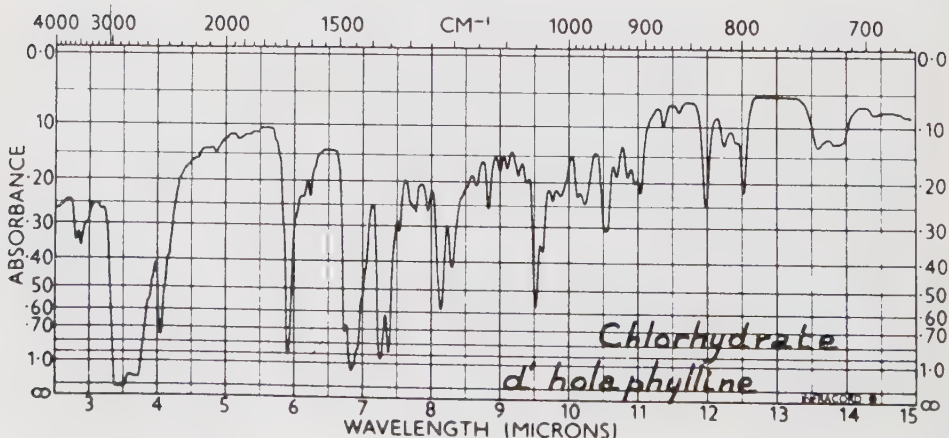
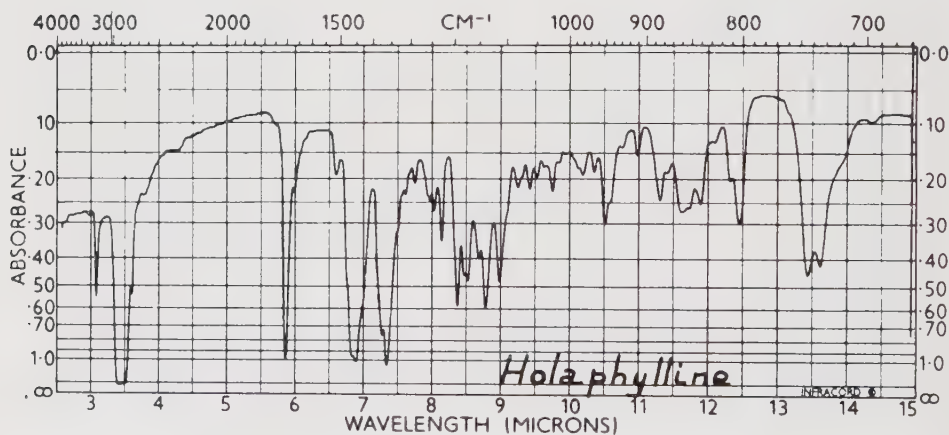


FIG. 7 et 7 bis.

- d'un groupe carbonyle (absorption à $1\,693\text{ cm}^{-1}$) ;
- d'une double liaison intracyclique (absorption à $798, 826$ et $1\,666\text{ cm}^{-1}$) (55) ;
- d'un atome d'hydrogène mobile vraisemblablement porté par un azote (absorption à $3\,330\text{ cm}^{-1}$).

D'ailleurs, le spectre infrarouge du chlorhydrate (bandes NH_2^+ et NH^+ à $2\,446$ et $2\,719\text{ cm}^{-1}$) (86) renforce cette hypothèse.

La présence de ces trois groupements fonctionnels se trouve confirmée par les observations suivantes :

Par condensation avec l'hydrazine, l'holaphylline donne naissance à une hydrazone $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_3$, II.

L'action de BH_3K sur l'holaphylline conduit à un alcool, III, l'holaphyllinol, $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{ON}$.

Les spectres infrarouges de cette hydrazone et de l'holaphyllinol (fig. 8) montrent la disparition de la vibration dans la région des carbonyles.

La position de la bande carbonyle du spectre infrarouge de l'holaphylline elle-même, ainsi que l'absence de pouvoir réducteur de cette base vis-à-vis du nitrate d'argent alcoolique, montrent clairement la présence d'un *groupement cétonique non conjugué*.

Par hydrogénation catalytique, en présence de palladium réduit, l'holaphylline, I, conduit à la dihydroholaphylline, IV, $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{ON}$, dont le spectre infrarouge présente toujours la bande carbonyle à $1\,693\text{ cm}^{-1}$ (fig. 9).

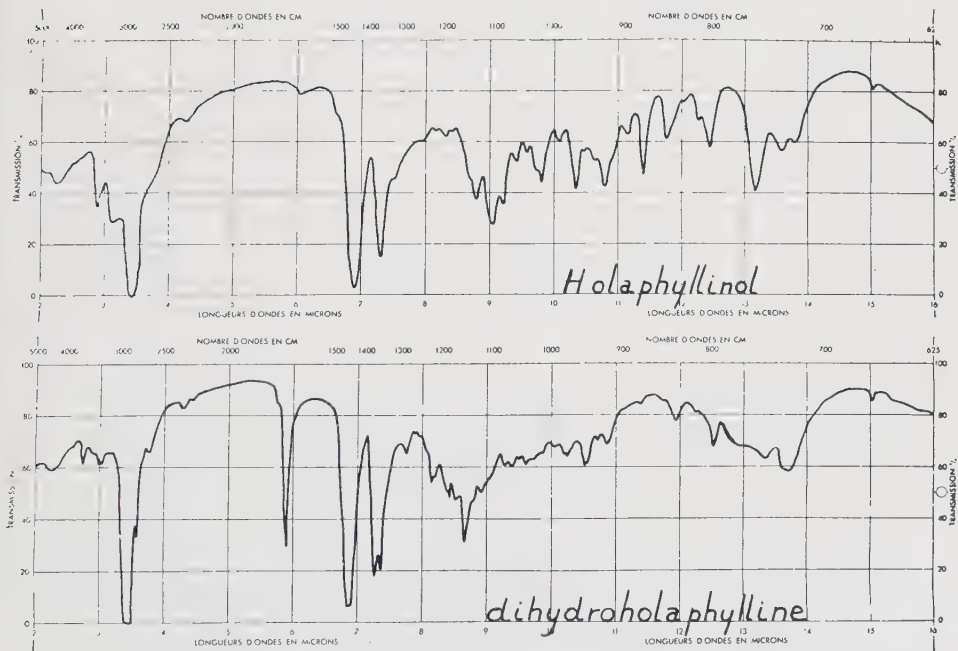


FIG. 8 et 9.

L'absence d'absorption de l'holaphylline elle-même, vis-à-vis des radiations ultraviolettes, montre que l'hydrogénation catalytique a porté sur une *double liaison isolée*.

Le pKa de l'holaphylline, ainsi que la formation d'un monochlorhydrate, indiquent qu'il s'agit d'une amine.

La présence d'un groupement N-CH₃ (dosé par la méthode de Zeisel) et d'un seul atome d'hydrogène mobile dans la molécule d'holaphylline (dosé par la méthode de Zerewitinoff) font prévoir la *nature secondaire du groupement aminé*.

En effet, par action de l'anhydride acétique dans la pyridine, l'holaphylline, I, conduit à la N-acétyl holaphylline, V, C₂₁H₃₇O₂N, dont le spectre infrarouge est caractérisé par la présence d'une bande acétamide à 1 620 cm⁻¹ (fig. 10).

Parallèlement, la méthylation de l'holaphylline par la méthode d'Eschweiler-Clarke (36) conduit à la monométhyl-holaphylline, VI, C₂₂H₃₇ON, dont le spectre infrarouge ne montre plus d'absorption dans la région des « H » mobiles (fig. 11).

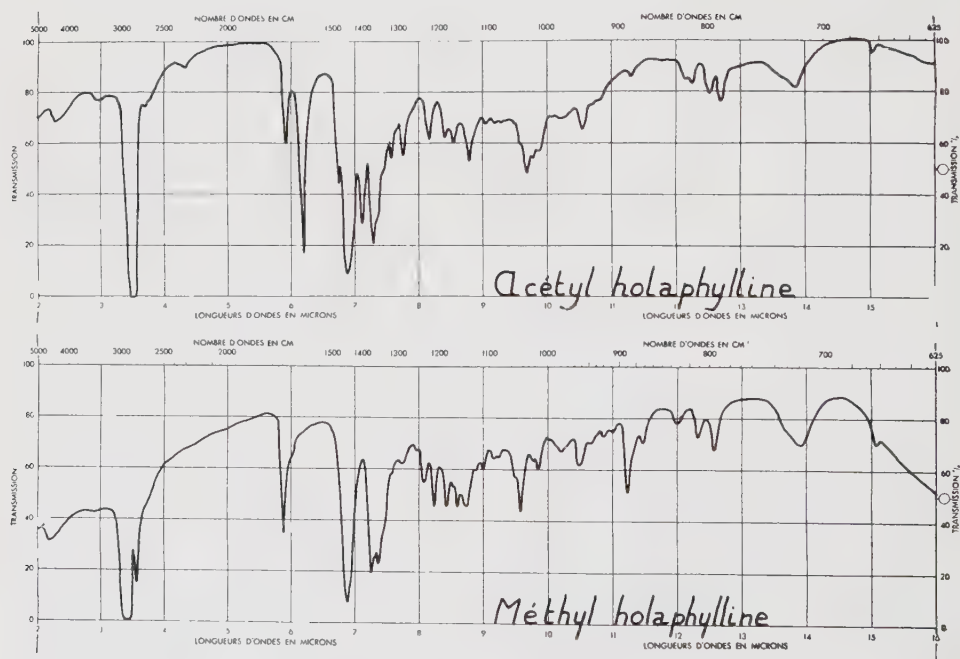


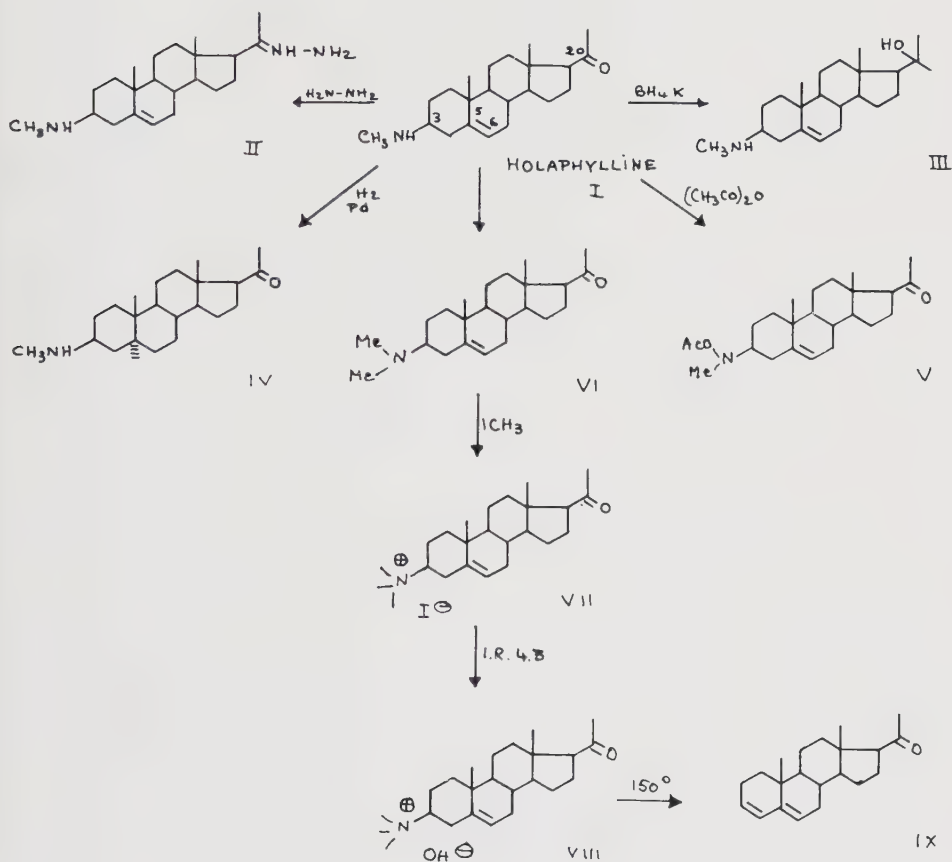
FIG. 10 et 11

De plus, le spectre I. R. du chlorhydrate de méthyl-holaphylline présente à 2 690 cm⁻¹ la bande caractéristique des amines tertiaires (86). D'ailleurs la pyrogénation de la base quaternaire, VIII, obtenue par passage sur résine échangeuse d'ions, de l'iodométhylate de méthyl holaphylline, VII, conduit, selon une réaction d'Hof-

mann, à un produit non basique, IX, $C_{21}H_{30}O$, dont le spectre U. V. présente à 235 m μ un maximum attribuable à un système diénique.

Ce dernier résultat apporte un renseignement intéressant sur la *proximité de la double liaison et du groupement fonctionnel aminé* de l'holaphylline.

TABEAU n° 10

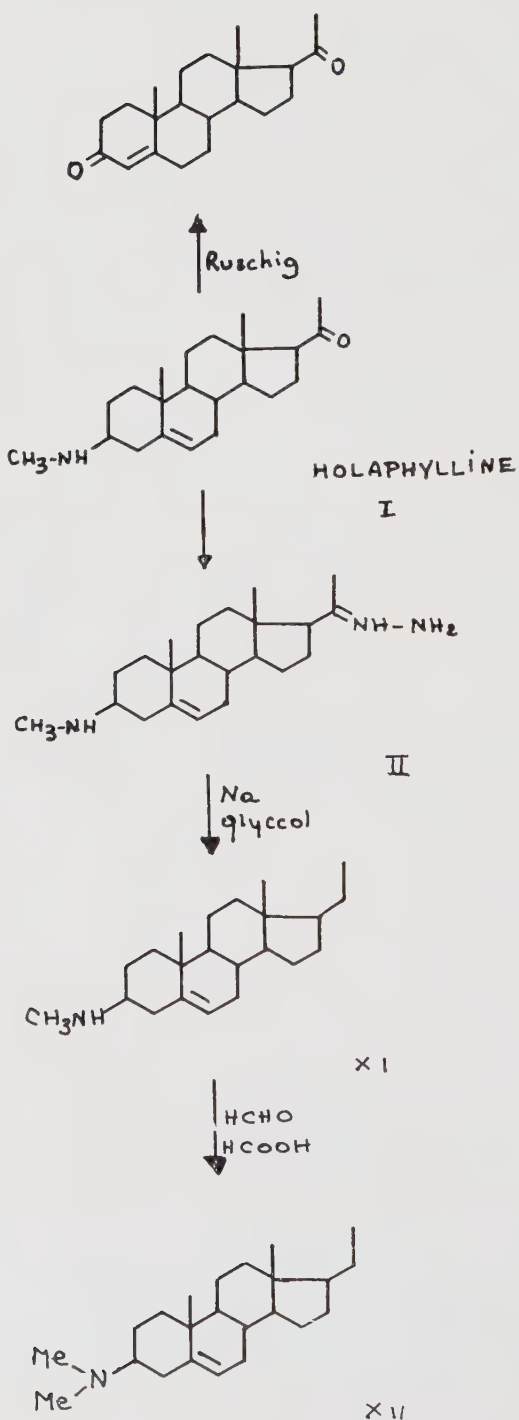


La présence, dans la molécule d'holaphylline, d'un groupement cétonique, d'une double liaison non conjuguée et d'un groupement N-CH₃, se trouve maintenant établie.

La *nature stéroïdique* du squelette de l'holaphylline a pu être prouvée de la façon suivante :

La désamination de l'holaphylline, I, par la méthode de Ruschig (120), conduit en une seule étape au dérivé, X, $C_{21}H_{30}O_2$, dont les constantes physiques sont identiques à celle de la progestérone : point de fusion, $(\alpha)_D$, spectre U. V. et I. R.

TABLEAU n° 11



Si cette identification ne laisse aucun doute sur la nature du squelette de l'holaphylline, elle laisse subsister pour la double liaison l'alternative des positions 4-5 et 5-6 et pour les groupes cétonique et aminé, l'alternative des positions 3 et 20.

Ces incertitudes sont levées par l'étude des produits résultant de la réaction de Wolff-Kishner sur l'holaphylline.

Le dérivé, XI, obtenu, $C_{23}H_{37}N$ ne possède plus, naturellement, de groupement cétonique et est susceptible de conduire, par méthylation, au moyen de la méthode d'Eschweiler-Clarke, au produit, XII, $C_{23}H_{39}N$.

Les deux dérivés, XI et XII, ont été identifiés respectivement au 3β -méthylamino-pregna-5-ène et au 3β -diméthylamino-pregna-5-ène, dont la structure a été établie sans ambiguïté par leur mode de préparation dû à HAWORTH (57).

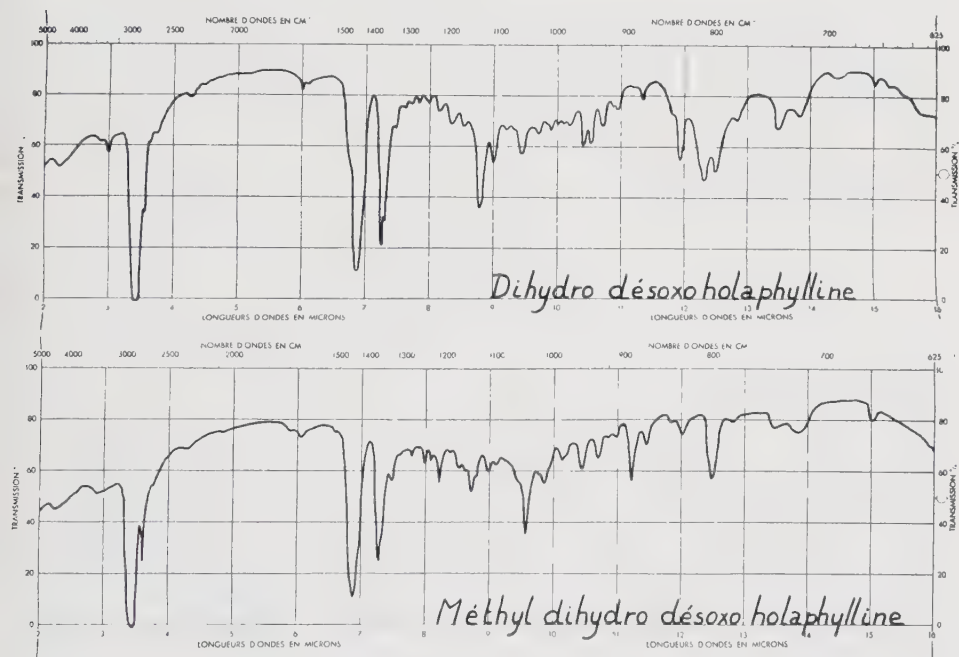


Fig. 12 et 13.

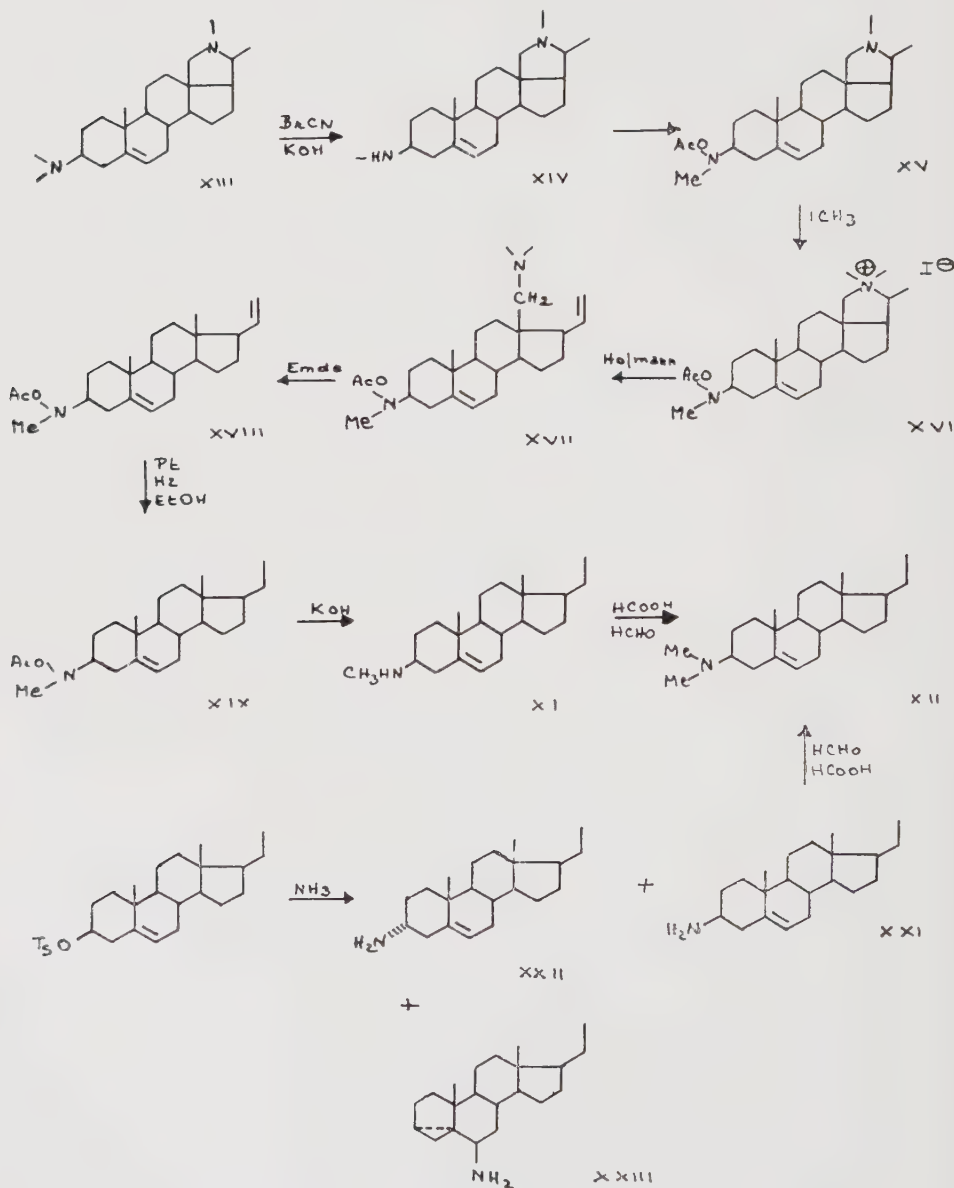
Préparation de Haworth (tableau n° 12).

Le 3β -méthylamino-pregnène est obtenu à partir de la conessine, XIII.

La dégradation de la conessine, XIII, avec le bromure de cyanogène selon Siddiqui et Siddiqui (129) mène à l'isoconessimine, XIV. Cette dernière, acétylée, XV, est transformée en iodométhylate, XVI.

TABLEAU n° 12

Préparation du 3 β -méthylamino-pregna-5-ène et du 3 β -diméthylamino-pregna-5-ène par HAWORTH.



Et ce sel est soumis à la dégradation d'HOFMANN de la façon habituelle. Le produit obtenu est une base renfermant deux atomes d'azote dont un seul est basique. Il est nommé N-acétyl-isoconessimine-méthine, XVII.

La réduction d'Emde sur le chlorhydrate de XVII conduit au N-acétyl N-méthyl-amino-pregnadiène, XVIII, qui par semi-hydrogénation catalytique, en présence de platine Adams, dans l'éthanol, donne le N-acétyl-N-méthylamino-pregna-5-ène, XIX, qui par hydrolyse conduit au 3β-méthyl-amino-pregna-5-ène, XI.

Celui-ci méthylé par la méthode d'Eschweiler-Clarke donne le 3β-diméthylamino-pregna-5-ène, XII.

Le 3β-diméthylamino-pregna-5-ène, a été préparé par synthèse (57).

L'ammoniolysé du tosylate de pregnénol, XX, donne un mélange d'amines, XXI, XXII, XXIII, dont l'épimère 3β-amino peut être isolé par précipitation avec la digitonine. Après décomposition du digitonide par les voies habituelles, la méthylation de l'amine primaire conduit à un dérivé diméthylé, XII, qui est le 3β-diméthylamino-pregna-5-ène, analogue au produit obtenu par dégradation de la conessine.

Ces identifications permettent, dès maintenant, d'attribuer à l'holaphylline la structure du 3β-méthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

Cette conclusion est corroborée par les observations suivantes :

1° Différences de rotation moléculaire.

Nom	(α) D	(M) D	$\Delta \text{ } \diagup \text{C} - \text{C} \diagdown$
Holaphylline, I, dihydro-holaphylline, IV,	+ 24° + 64°	+ 79° + 211°	132
méthyl-holaphylline, VI, méthyl-dihydro-holaphylline,	+ 30°5 + 88°	+ 103° + 304°	201
holaphyllinol, III, dihydro-holaphyllinol, XXV,	73°5 0	- 245° 0	245
méthyl-holaphyllinol, XXIV, méthyl-dihydro-holaphyllinol, XXVII, ..	- 64° + 5°5	- 221° + 19°	240
méthyl-dihydro-desoxo-holaphylline, XII 3β-diméthylamino-5-pregnane (38)	- 50° + 18°	- 164° + 60°	224
conessine dihydro-conessine	- 1° + 46°	- 4° + 165°	169°
cholesterol dihydrocholesterol			- 243°

Les pouvoirs rotatoires sont mesurés en solution chloroformique à une concentration voisine de 1 %.

Toutes les valeurs $>C = C<$ sont négatives et d'un ordre de grandeur voisin. Elles correspondent à la saturation d'une double liaison en 5-6 (38).

Il convient de remarquer que, dans le cas de l'holaphylline, cette valeur est plus proche de celle de la conessine, alors que dans les autres dérivés, elle se rapproche de celle du cholestérol.

Le maximum U. V. à 235 m μ observé pour le produit, IX, résultant de la réaction d'HOFMANN correspond bien d'ailleurs aux valeurs données par KLYNE, pour un système diénique s-trans établi dans deux cycles contigus. Le résultat de la réaction d'HOFMANN confirme donc la présence en 5-6 de la double liaison initiale.

Si cette double liaison avait été en 4-5, la dégradation aurait conduit à un système diénique compris dans un même cycle et absorbant dans l'ultraviolet à 275 m μ .

D'autre part, la dégradation d'Hofmann ne se réalise pas généralement pour les dérivés porteurs d'un groupement aminé en 3 β en série saturée. En effet, HAWORTH a montré (55) qu'en série stéroïde A/B trans, les dérivés triméthylammonium 3 β (conformation équatoriale) conduisent par pyrolyse à l'amine tertiaire 3 β . Ici le départ de triméthylamine est favorisé par la proximité de la double liaison et l'établissement du système diénique.

2° Les *positions* du *carbonyle* et du *groupement aminé* de l'holaphylline, ainsi que la *configuration en C₃* sont confirmées par la préparation, à l'aide de méthodes stéréospécifiques, d'un dérivé commun issu de cet alcaloïde et de la funtumine.

L'hydrogénation catalytique de l'alcool III, l'holaphyllinol, conduit au dérivé dihydrogéné, XXVI, qu'une méthylation par la méthode d'Eschweiler-Clarke, transforme en méthyl-dihydro-holaphyllinol, XXVII, C₂₃H₄₁ON.

Ce méthyl dihydro holaphyllinol a d'ailleurs pu être préparé par les autres voies indiquées sur le tableau n° 13.

Le méthyl holaphyllinol, possède toujours le groupement oxygéné en 20 et le groupement aminé en 3.

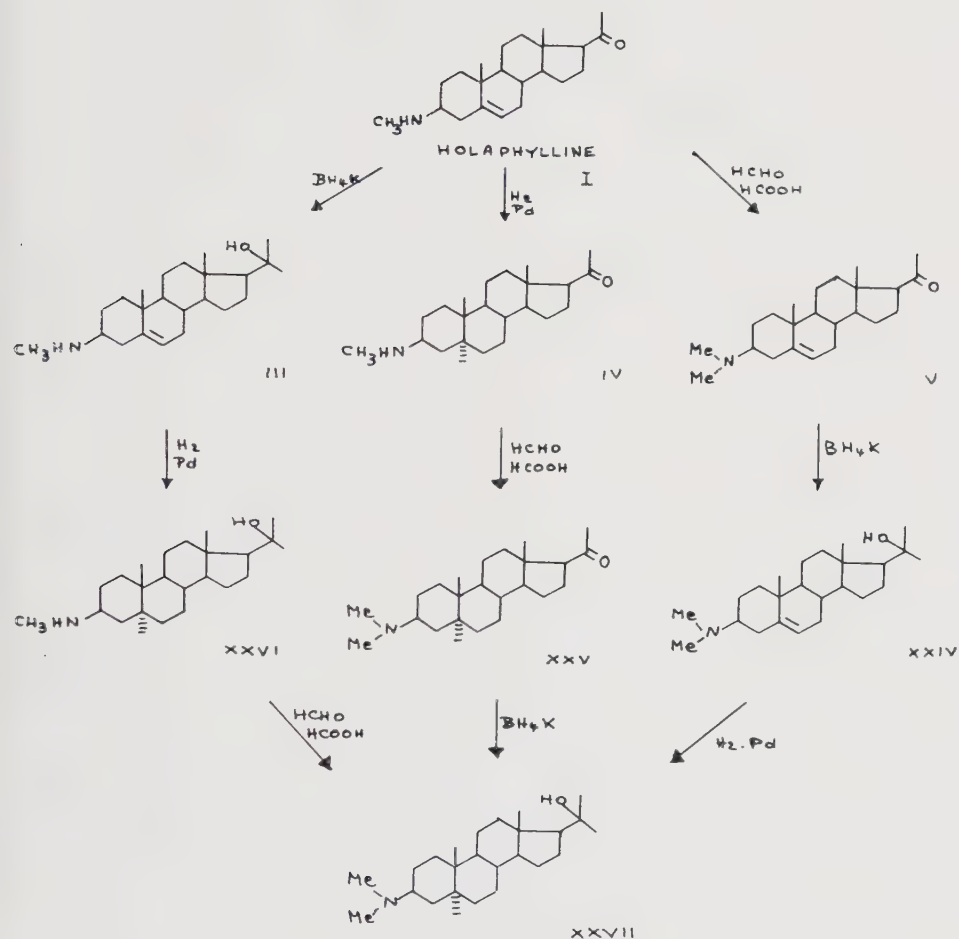
Le groupement hydroxyle obtenu par réduction au borohydrure possède la configuration 20 β .

Les réactions utilisées n'ont pas fait varier la stéréochimie du groupement aminé en 3 présent dans la molécule d'holaphylline.

Le dérivé, XXVII, a été obtenu à partir de la funtumine, XXVIII, par la séquence de réactions suivantes (tableau n° 14).

La funtumine, XXVIII, est le 3 α -amino-20-oxo-5 α -pregnane (70). Après réduction de carbonyle en 20 par BH.K, l'alcool en 20, possède la configuration 20 β (isofuntumidine) (71), XXIX. Une désamination par la méthode de Ruschig transforme le groupement 3 α -aminé en groupement cétonique. Le dérivé, XXX, obtenu, peut être condensé avec l'hydroxylamine pour conduire à l'oxime, XXXI, correspondante.

TABLEAU n° 13

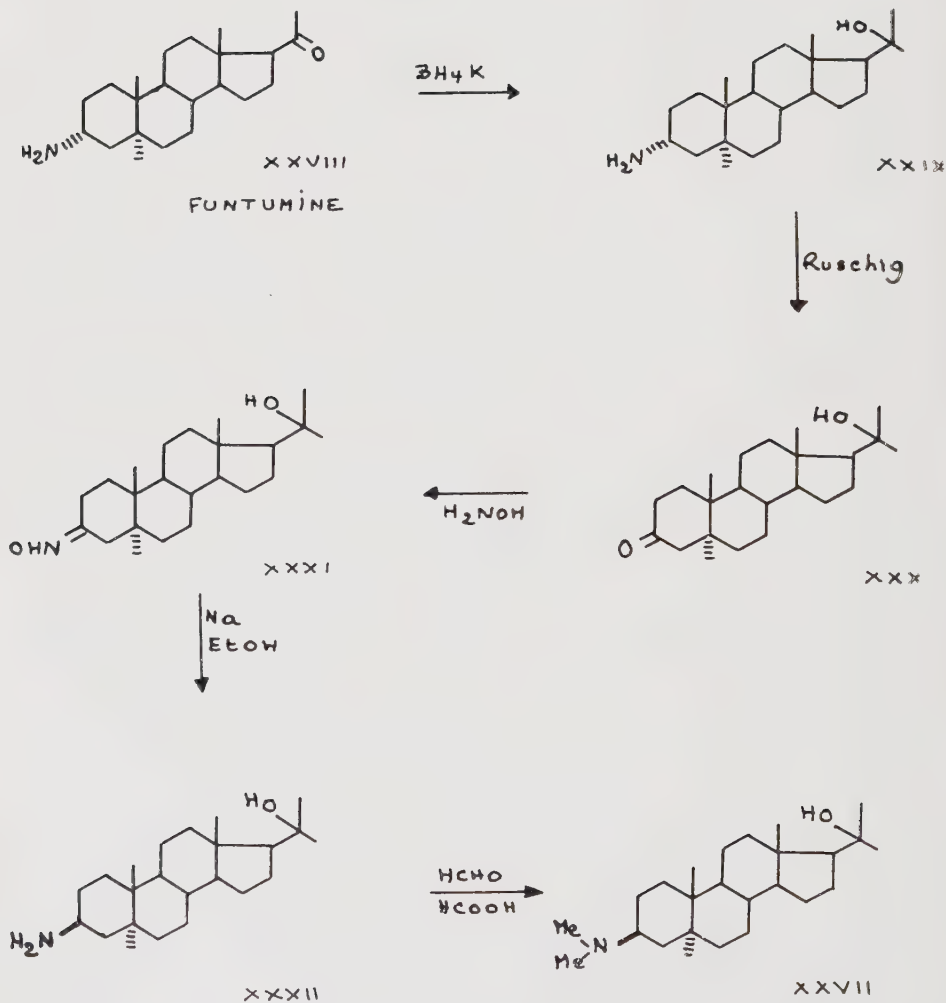


On sait que la réduction stéréospécifique de telles oximes par le sodium dans l'éthanol permet d'atteindre les dérivés 3 β -aminés (109) (125).

Le produit obtenu, XXXII, 3 β -amino-20 β -hydroxy-5 α -pregnane, conduit après méthylation par la méthode d'Eschweiler-Clarke au dérivé XXVII attendu.

Le point de fusion, le point de fusion mélangé, le pouvoir rotatoire, le spectre infrarouge des deux dérivés préparés respectivement à partir de l'holaphylline et de la funtumine permettent de conclure à leur identité.

TABLEAU n° 14



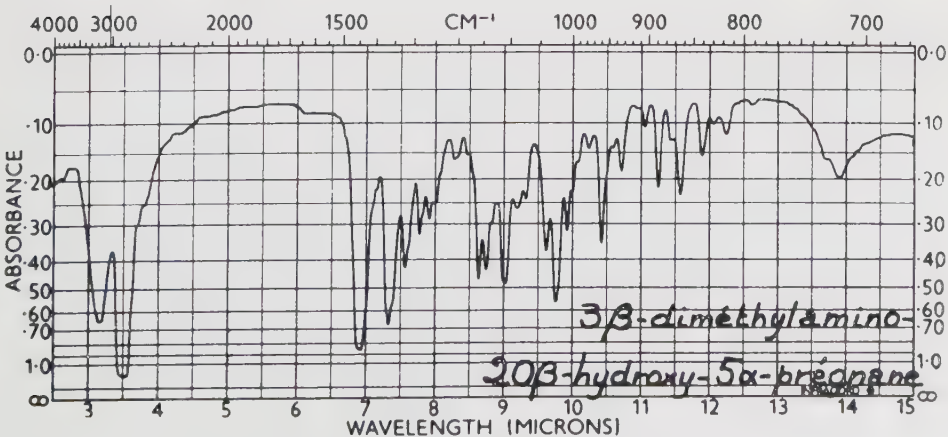
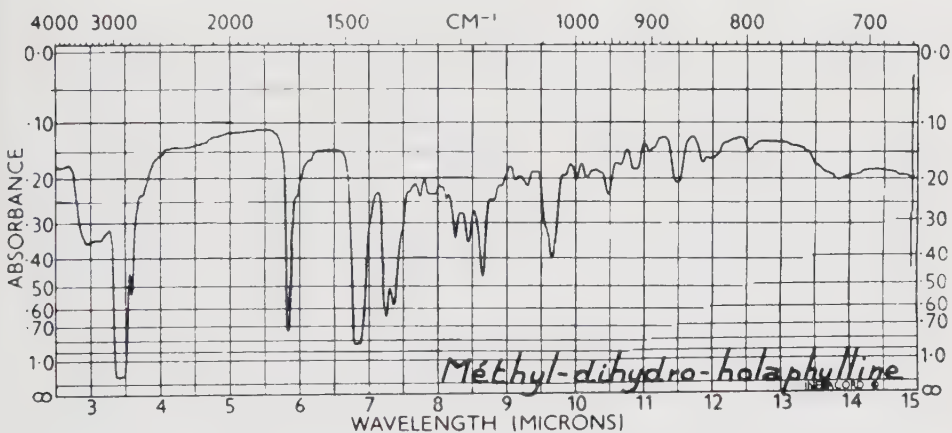
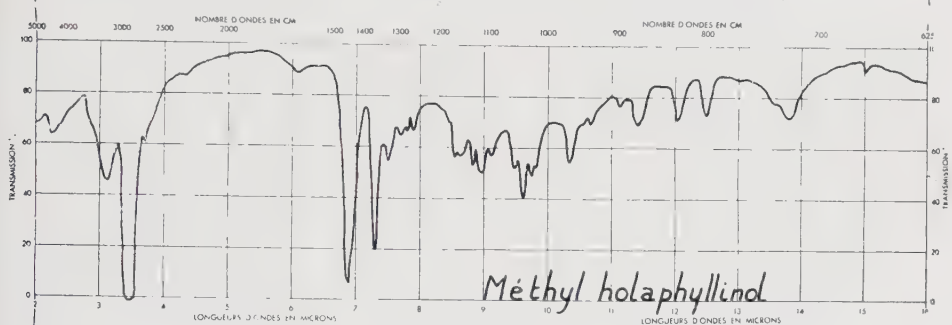


FIG. 14, 15, 16 et 17.

L'HOLAPHYLLAMINE

L'holaphyllamine, XXXIII, est une base de formule brute $C_{27}H_{37}ON$ qui n'a pu être obtenue à l'état cristallisé.

Elle donne lieu à la formation d'un monochlorhydrate cristallisé de point de fusion supérieur à $320^{\circ} (\alpha)_D + 20^{\circ}$ (MeOH).

Le spectre infrarouge du chlorhydrate (fig. n° 18) permet d'envisager la présence de :

- une fonction carbonylée (absorption à $1\,693\text{ cm}^{-1}$),
- une double liaison intra-cyclique (absorption à $800, 830, 1\,670\text{ cm}^{-1}$),
- un groupe NH_3^+ (absorption à $1\,980\text{ cm}^{-1}$).

Le spectre ultraviolet est transparent.

L'holaphyllamine possède une fonction amine primaire.

La présence de cette fonction est prouvée par l'obtention d'un dérivé diméthylé à l'azote par la méthode d'Eschweiler-Clarke.

Le produit de cette réaction, XXXIV, $C_{29}H_{37}ON$ est identique à la méthyl holaphylline.

Cette réaction suffit donc à établir la structure de l'holaphyllamine qui est le 3β -amino-20-oxo-pregna-5-ène.

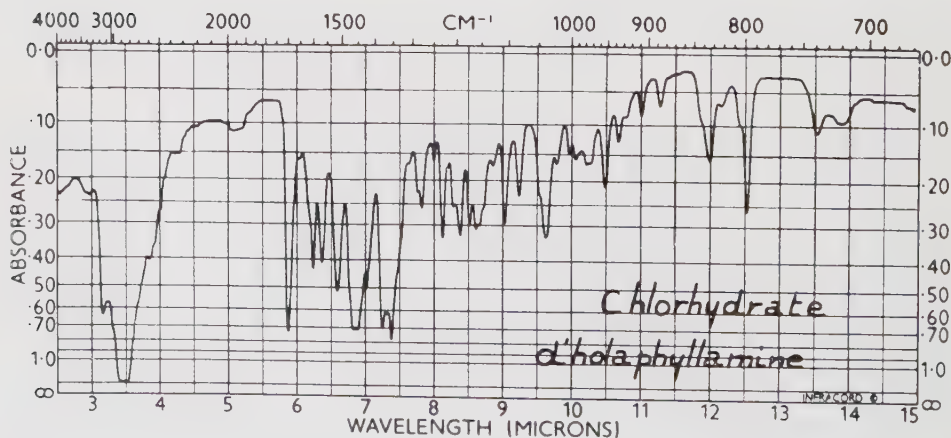
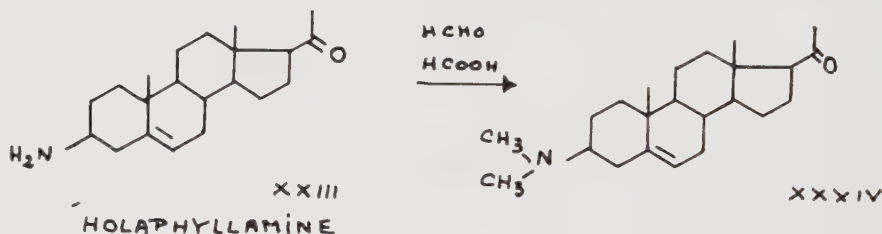


FIG. 18.

L'HOLAMINE

L'holamine, XXXV, $C_{21}H_{33}ON$ de point de fusion F : 135° (α)_D + 23° ($CHCl_3$), est une base azotée pouvant donner lieu à la formation d'un monochlorhydrate.

Du point de vue *groupements fonctionnels*, l'examen du spectre infrarouge (fig. 19) laisse prévoir la présence de :

— un groupement carbonyle (absorption à $1\,690\text{ cm}^{-1}$) vraisemblablement cétonique,

— une double liaison intracyclique (bandes d'absorption à 800 , 830 et $1\,670\text{ cm}^{-1}$),

— un ou plusieurs hydrogènes mobiles, certainement portés par un azote (bandes à $3\,400$ et $1\,600\text{ cm}^{-1}$).

D'ailleurs l'examen du spectre infrarouge du chlorhydrate d'holamine (fig. 20) renforce cette hypothèse (bandes NH_3^+ à $2\,030\text{ cm}^{-1}$).

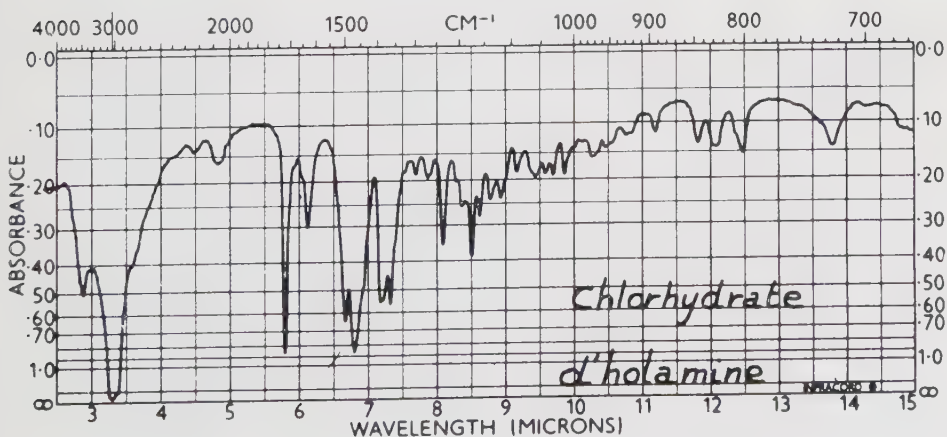
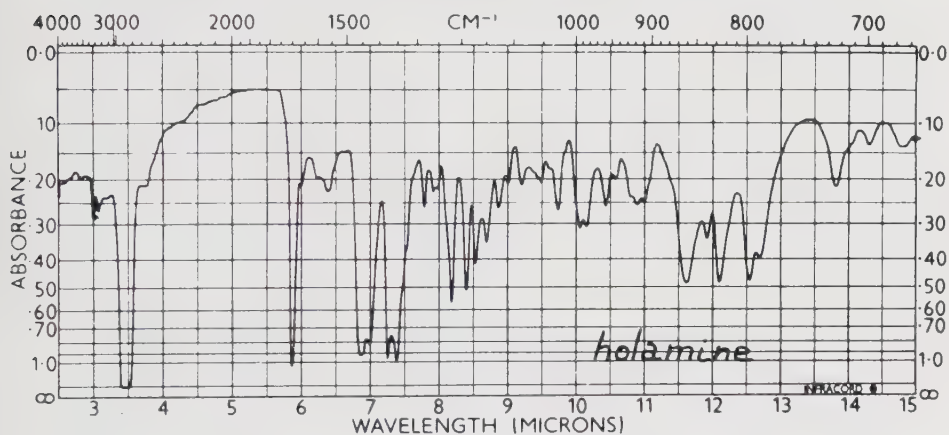


FIG. 19 et 20.

La présence de ces trois groupements fonctionnels est confirmée par les réactions suivantes :

— L'holamine donne par condensation avec l'hydrate d'hydrazine une hydrazone cristallisée, XXXVI, $C_{21}H_{35}N_3$ et par condensation avec l'hydroxylamine un oxime cristallisé, XXXVII, $C_{21}H_{34}ON_2$.

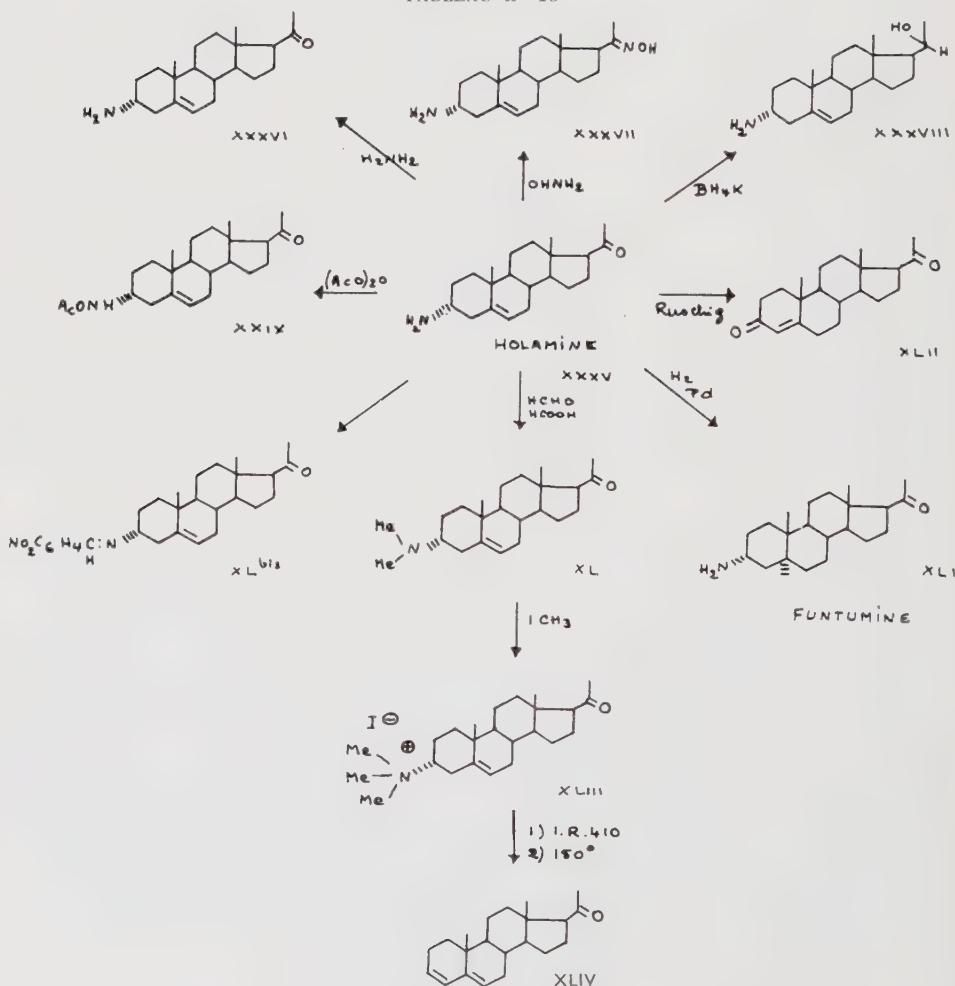
— La réduction par BH_3K conduit à un alcool, XXXVIII, $C_{21}H_{35}ON$, l'holaminol.

— Les spectres I. R. de ces trois produits ne possèdent plus la vibration due au carbonyle.

L'absence de spectre U. V. de l'holamine permet d'affirmer que la fonction carbonylée n'est pas conjuguée à une double liaison.

L'absence de pouvoir réducteur vis-à-vis du nitrate d'argent en solution alcoolique et la position de la vibration dans l'infrarouge

TABLEAU n° 15



à $1\,690\text{ cm}^{-1}$, indiquent la présence d'une *fonction cétonique non intracyclique*.

— L'action de l'anhydride acétique sur l'holamine permet d'obtenir une acétyl-holamine, XXXIX, $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{O}_2\text{N}$, dont le spectre I. R. possède des bandes d'absorption à $3\,320\text{ cm}^{-1}$ dues à un groupe NH-CO-CH_3 .

— Parallèlement, la méthylation par le mélange formol-acide formique selon ESCHWEILER-CLARKE mène à un produit diméthylé à l'azote, XL, $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{ON}$.

— L'holamine donne un dérivé benzyldénique par condensation avec la paranitro-benzaldehyde, XL bis, $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{O}_3\text{N}_2$.

Ces trois réactions, ainsi que le spectre I. R. du chlorhydrate, permettent de conclure à la présence d'une *fonction amine primaire*.

— L'hydrogénation catalytique de l'holamine en présence de charbon palladié à 15 %, bien que lente, conduit à un composé dihydrogéné, XLI, $\text{C}_{23}\text{H}_{39}\text{ON}$, dont les constantes physiques, point de fusion, pouvoir rotatoire, spectre infrarouge, sont identiques à celles de la funtumine, le 3 α -amino-20-oxo-5 α -pregnane.

C'est une réaction sur laquelle nous reviendrons, en raison de son apparente anomalie. Toutefois, l'absorption d'hydrogène, et l'absence de spectre dans l'ultraviolet de l'holamine permettent de conclure à une *double liaison isolée*.

L'obtention de funtumine par hydrogénation catalytique de l'holamine démontre la *nature stéroïdique* de la molécule et, de plus, donne l'emplacement des groupements fonctionnels :

— 1. — *Le carbonyle en 20.*

— 2. — *Le groupement aminé en 3.* La configuration en trois est donnée de surcroît, il s'agit d'un groupement 3 α -amino.

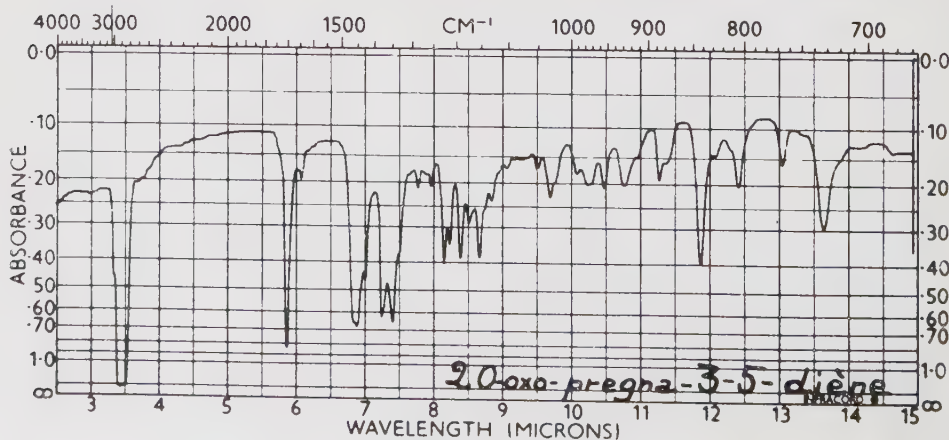
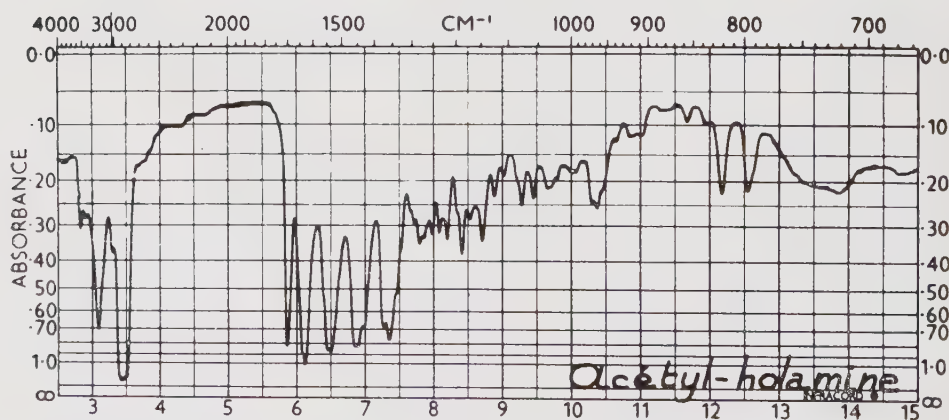
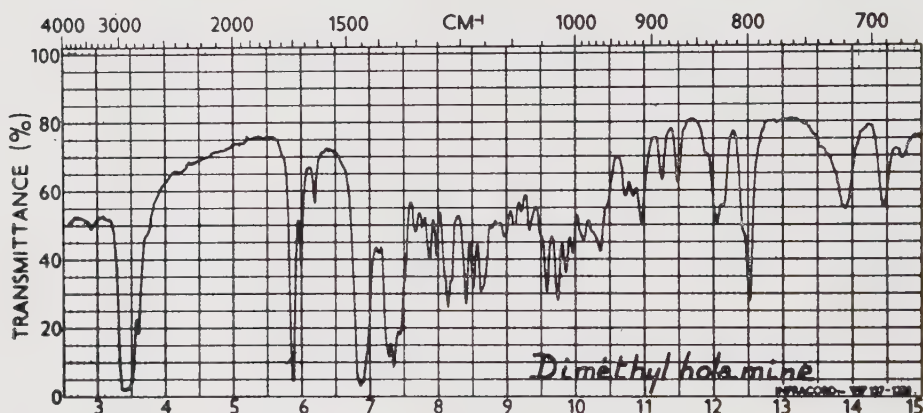
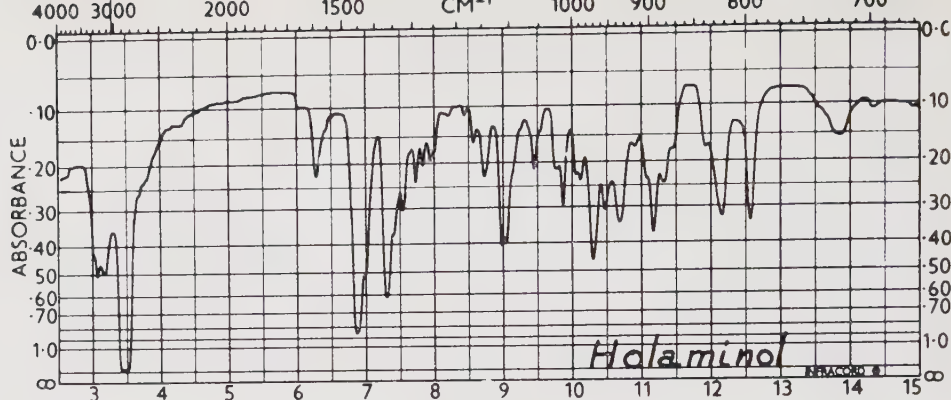
Deux autres réactions, en confirmant la nature stéroïdique de l'holamine, permettent de limiter les positions de la double liaison aux emplacements 4-5 ou 5-6.

1) La désamination par la méthode de Ruschig, de l'holamine, conduit à un composé dicétonique, XLII, $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$, dont les constantes physiques, spectres U. V. et I. R. sont identiques à celles de la progestérone.

2) La pyrolyse de la base quaternaire, obtenue par passage sur résine échangeuse d'ions I. R. 410 de l'iodométhylate de diméthylholamine, XLIII, donne un produit neutre, exempt d'azote, XLIV, $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}$, absorbant dans l'ultraviolet avec un maximum à $235\text{ m}\mu$ correspondant à un système diène conjugué.

Ce composé est identique, par son point de fusion, pouvoir rotatoire, spectres U. V. et I. R. au produit de la dégradation d'Hofmann de l'holaphylline.

La position de la double liaison est alors fixée sans ambiguïté en 5-6 par :



1° *L'examen des différences de rotation moléculaire entre holamine et dérivés et les composés dihydrogénés correspondants* (86).

Nom	(α) _D	(M) D	C = C
Holamine XXXV.....	+ 23°	+ 72°5	228
Funtumine XLI	+ 95°	+ 301°	
Dihydrodesoxo-holamine XLV	— 63°	— 192°	255°
Dihydro-desoxo-funtumine.....	+ 21°	+ 63°	
Diméthyl-dihydro-desoxo-holamine XLVI	— 50°	— 170°	224
Diméthyl-dihydro-desoxo-funtumine	+ 15°5	+ 54°	
Diméthyl-holamine XL	+ 17°5	+ 57°5	246
Diméthyl-funtumine	+ 93°	+ 304°	
Holaminol XXXVIII	— 78°5	— 249°	230
Isofuntumidine	— 6°	— 19°	
Cholesterol			243
Dihydrocholesterol.....			

Les pouvoirs rotatoires sont tous effectués en solution dans le chloroforme à une concentration voisine de 1 %. Toutes les différences de rotation moléculaire entre corps de la série de l'holamine et leurs homologues de la série de la funtumine sont négatives et de l'ordre de — 240°, valeur trouvée pour le cholestérol.

Ce sont d'ailleurs les mêmes valeurs que celles qui ont été trouvées pour la série de l'holaphylline. Cette différence correspond à l'hydrogénation d'une double liaison en 5-6.

2° Réaction de Wolff-Kishner.

L'hydrazone de l'holamine, XXXVI, réduite par le glycolate de sodium, conduit, selon une réaction de type Wolff-Kishner, à un produit ne possédant plus de fonction carbonylée, XLV, $C_{25}H_{35}N$, la dihydrodesoxo-holamine. La dihydrodesoxo-holamine, qui existe sous deux formes cristallines de points de fusion différents, méthyliée par la méthode d'Eschweiler-Clarke, donne naissance à un dérivé diméthylé à l'azote, XLVI, $C_{25}H_{39}N$, qui a aussi été préparé par réaction de Wolff-Kishner directe, sur la diméthyl-holamine.

La diméthyl-dihydro-desoxo-holamine, XLVI, possède le même point de fusion qu'un composé préparé par HAWORTH (55) et par SHOPPEE (109), le 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène.

L'hydrogénation catalytique de XLVI, en présence de platine, réduit, conduit à un produit dihydrogéné, XLVII, C₂₇H₄₁N, dont le point de fusion est identique au 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane préparé par HAWORTH.

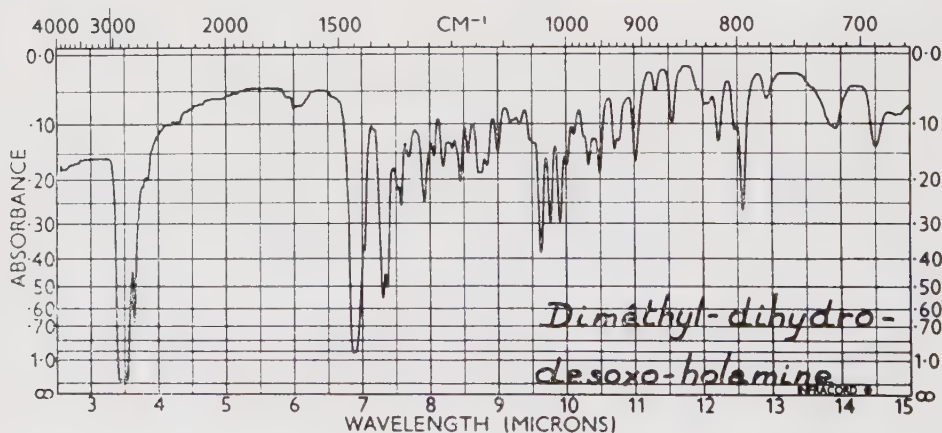
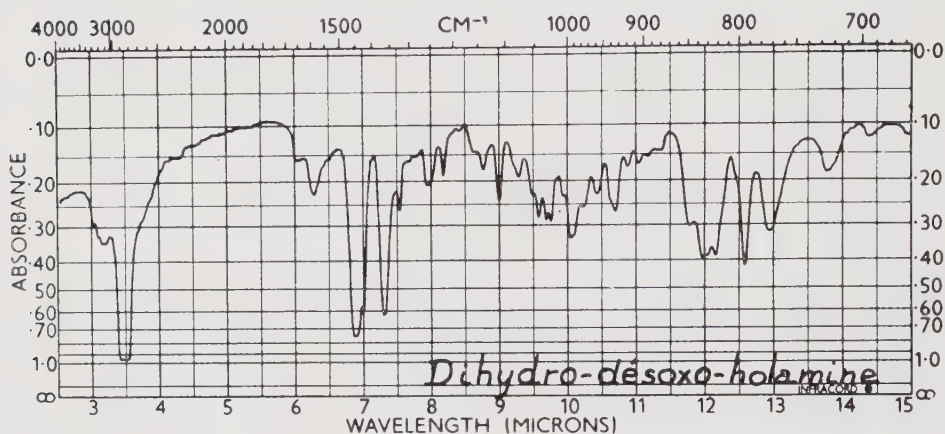


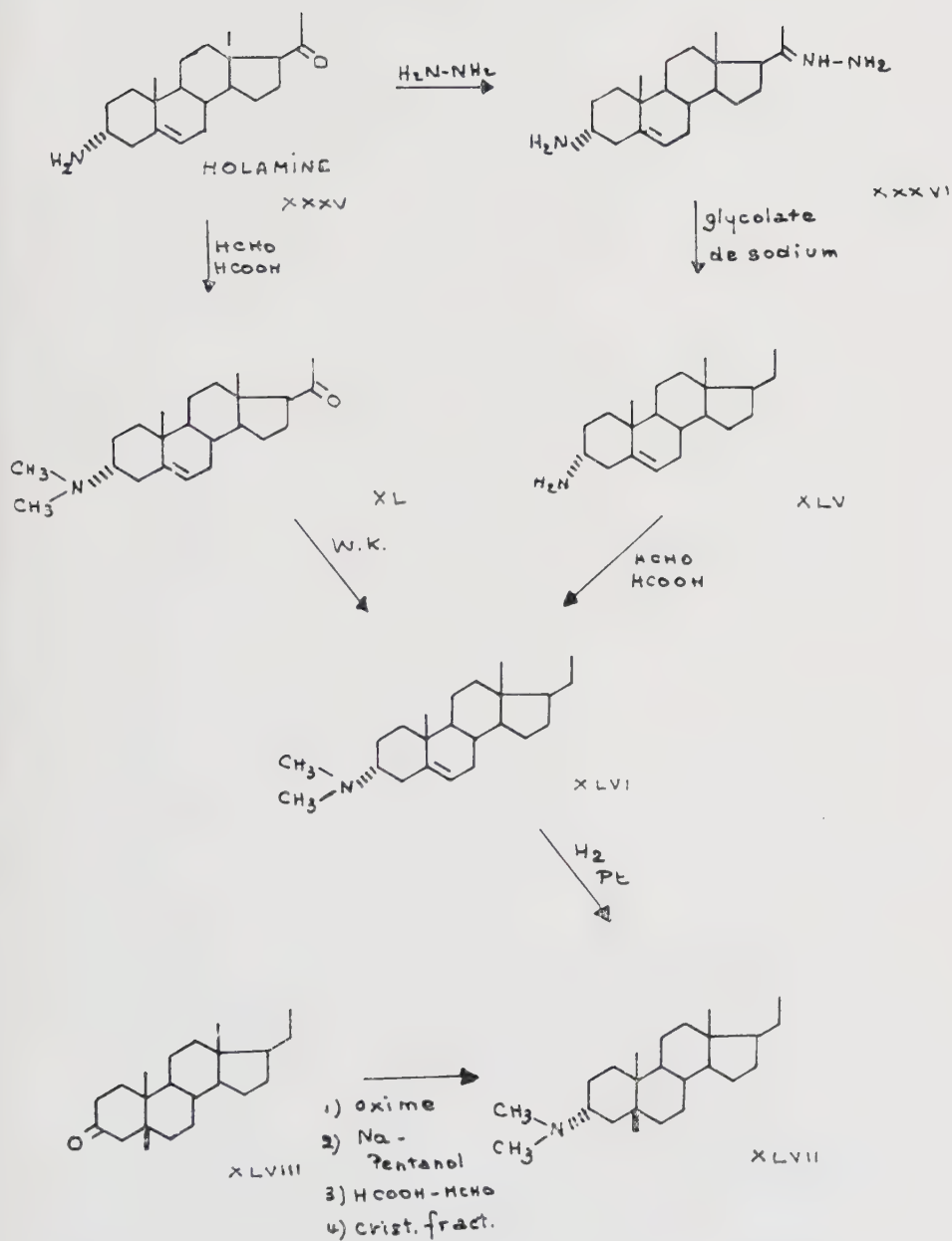
FIG. 25 et 26.

Préparation du 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène.

A) par HAWORTH.

L'amminolyse du 3 β -tosyloxy-pregna-5-ène par la diméthylamine a donné un seul produit, qui a été identifié au 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène par l'obtention après hydrogénation catalytique, du 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane.

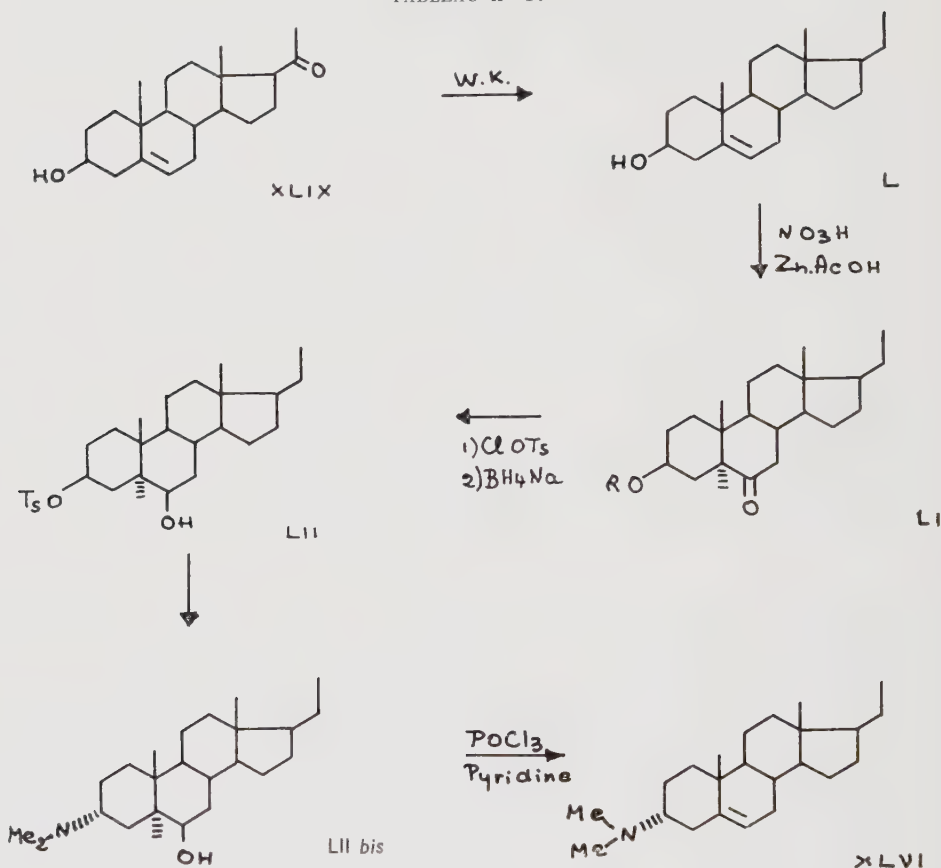
TABEAU n° 16



B) par SHOPPEE.

A partir de la pregnénolone, suivant le schéma suivant :

TABLEAU n° 17



Par hydrogénation du 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène, SHOPPEE, comme HAWORTH, obtient une base inconnue de point de fusion 79°, qui sera identifiée par la suite au 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane.

Préparation du 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane.

Il est obtenu par HAWORTH de deux façons :

- 1° par hydrogénation du 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène ;
- 2° à partir du 3-oxo-5 β -pregnane, XLVIII (57).

La réduction de l'oxime correspondant à cette cétone, conduit, après méthylation, au mélange des dérivés 3 α -diméthylamino et 3 β -diméthylamino-5 β -pregnane qui sont séparés par cristallisation fractionnée.

A la suite de l'obtention du 3 α -amino-20-oxo-5 α -pregnane par hydrogénation catalytique de l'holamine et du 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène par réduction de Wolff-Kishner sur la diméthyl-holamine, la structure de 3 α -amino-20-oxo-pregna-5-ène peut être attribuée sans ambiguïté à l'holamine.

Hydrogénation catalytique de l'holamine.

Il a été prouvé que l'holamine est le 3 α -amino-20-oxo-pregna-5-ène. Toutefois la difficulté rencontrée pour obtenir une hydrogénation complète, et l'obtention de funtumine ont pu, pendant un certain temps, faire douter :

- de la présence de la double liaison (46),
- de son emplacement (47).

L'hydrogénation catalytique est longue. Il est nécessaire d'agiter l'holamine en atmosphère d'hydrogène pendant un minimum de vingt-quatre heures pour que l'absorption soit quantitative.

Ceci a pu mettre, tout d'abord, en doute, la présence d'une double liaison et faire envisager la possibilité d'un groupe cyclo-propane, 3-5-cyclo, puisque dans certaines conditions un tel système est hydrogénable.

Mais, ensuite, cette hypothèse fut rapidement éliminée car :

— Les 3-5-cyclo-6-amino dérivés ne peuvent être méthylés par la méthode d'Eschweiler-Clarke, les conditions de cette réaction provoquant leur désamination et la formation de l'alcool 3 β - Δ 5 correspondant (88).

— Un tel système, par désamination oxydative selon le procédé de RUSCHIG, ne mène pas à la cétone en 3 mais à la cétone en 6 avec conservation du groupe 3-5-cyclo.

L'hydrogénation catalytique de l'holamine mène à la formation de funtumine, c'est-à-dire de 3 α -amino-20-oxo-5 α -prégnane.

Or, d'après FIESER (40) toute fonction située en 3 β oriente l'hydrogénation d'une double liaison 5-6 en position 5 α , en série A/B trans, mais, lorsque les substituants sont situés en 3 α , l'hydrogénation catalytique de la double liaison en 5-6 est orientée en 5 β et mène à un corps de la série A/B cis.

La formation d'un dérivé 5 α fait donc envisager l'hypothèse d'une double liaison en 4-5 puisque de tels systèmes, d'après FIESER, voient le cours de leur hydrogénation dépendre du milieu.

Par exemple, les 3 α - Δ 4 cholestènes mènent, par hydrogénation, à des coprostanes en milieu neutre et à des cholestanes en milieu acide.

De plus SHOPPEE (124) indique que, pour les Δ 4-stéroïdes, l'influence des substituants en 3 α ou en 3 β est moins marquée que pour les Δ 5-stéroïdes et que l'hydrogénation mène à des mélanges de produits des séries A/B cis et A/B trans.

Mais comme il a été vu plus haut, la structure de l'holamine est établie avec certitude et il n'y a plus aucune ambiguïté quant à la position 5-6 de la double liaison.

L'anomalie apparente dans l'orientation de l'hydrogénation de l'holamine nous a donc amené à étudier en détail l'hydrogénation des dérivés 3 α - Δ 5.

Hydrogénation catalytique des dérivés 3 α - Δ 5.

En 1953, LEWIS et SHOPPEE (93) voulant obtenir du 3 α -méthyloxy-cholestane, pensent l'obtenir par hydrogénation du 3 α -méthyloxy-cholestène, mais ils obtiennent du 3 α -méthyloxy-**coprostane**.

Etudiant cette anomalie, ils remarquent que l'hydrogénation catalytique du 3 α -acétoxy-cholestène, en présence de platine Adams, conduit au 3 α -acétoxy-**coprostane**.

Ces hydrogénations sont effectuées dans le méthanol avec des traces de H Br.

LEWIS et SHOPPEE notent que le substituant en 3 α est susceptible de commander une absorption préférentielle sur la face β du stéroïde. Le rôle de H Br est incertain.

Des possibilités stéréochimiques identiques sont observées quand le substituant en 3 α du type O-R est remplacé par des substituants de type NH-R ou N-R₂.

A la même époque, HAWORTH (54) faisant la synthèse d'un 3-diméthylamino-pregnène par action de la diméthylamine sur le 3 β -tosyloxy-pregnène cherche à l'identifier par hydrogénation catalytique au dérivé 3 α ou 3 β , cette hydrogénation devant lui permettre d'aboutir à un 3-diméthylamine-5 α -pregnane dont les deux isomères en 3 sont connus. Obtenant un produit dihydrogéné de structure inconnue, différent des 3 α et 3 β -diméthylamino-5 α -pregnane, il en conclut que le produit de départ n'est pas le 3 α -diméthylamino-pregnène et pose l'hypothèse du 3-5-cyclo-6-diméthylamino-pregnène.

Dans une publication ultérieure (57) il rectifie et identifie le produit d'hydrogénation au 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane.

Semblable mésaventure advient à SORM, LABLER et CERNY (140) qui rectifient l'année suivante (141) et interprètent correctement la préparation d'une base de la série du **coprostane**.

EVANS, SHOPPEE et SUMMERS (37) hydrogénant le 3 α -acétamido-cholestène, en présence de platine Adams dans l'acide acétique, obtiennent le 3 α -acétamido-**coprostane**.

SHOPPEE et coll. (109) par hydrogénation du 3 α -diméthylamino-cholestène arrivent au 3 α -diméthyl-amino-**coprostane**.

A la suite de ces résultats, la conclusion est que *tout substituant en 3 α dans un stéroïde possédant une double liaison en 5-6 orienté, en majeure partie, l'hydrogénation de celle-ci sur la face β du stéroïde, aboutissant à un corps de la série A/B cis*.

Mais ceci ne peut constituer une loi absolue.

Des exceptions sont signalées :

— HAWORTH (56) hydrogénant du 3 α -acétamido-cholestène n'obtient pas un rendement prédominant en dihydro dérivé de la série A/B cis mais des dérivés de séries du coprostane et du cho-

lestane, en quantité approximativement égale. Il signale le cas et ne donne pas d'explication.

En 1955, LEWIS et SHOPPEE (94) hydrogénant du 3 α -hydroxy-cholestène ont, comme produit de réaction, 80 % de dérivé du coprostane et 20 % de dérivé du cholestane. Ils entreprennent alors l'étude systématique de l'hydrogénation des dérivés 3 α - Δ^5 et notent l'influence du substituant en 3 α dans la stéréochimie de l'hydrogénation catalytique des Δ^5 -stéroïdes.

Il ressort de cette étude que l'hydrogénation en 5-6 des dérivés 3 α substitués mène de préférence et quelquefois exclusivement à la formation de dérivés du **coprostane**, mais qu'il peut aussi se former, dans certains cas, en quantité importante, des dérivés du cholestane.

Après l'étude de l'influence des différents substituants, SHOPPEE donne le tableau suivant :

TABLEAU n° 18

Substituant en 3 α	OH	OMe	OAc	NHMe	NHAc	N-Me ₂
teneur en A/B cis %	50	> 90	90	~ 100	> 90	~ 100
teneur en A/B trans %	40					

Il ressort de l'examen de ce tableau que :

Plus les substituants en 3-axiaux sont volumineux, plus grande est la proportion de dérivé de la série A/B cis formée.

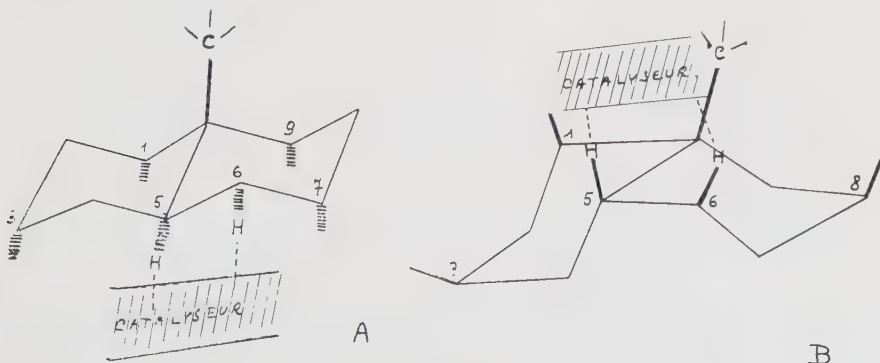
Une explication théorique de la marche de l'hydrogénation est donnée par FISER (40) à la suite des travaux de HADLER (50) et de ROBINSON (117), qui rend compte de la marche différente de l'hydrogénation suivant la substitution en 3 β ou 3 α .

L'hydrogénation catalytique se fait par l'intermédiaire d'un complexe avec le catalyseur.

Le Δ^5 -stéroïde, au cours de l'hydrogénation catalytique, peut donner naissance à deux complexes intermédiaires :

— le complexe A, l'attaque par l'hydrogène se faisant sur la face α du stéroïde menant à un dérivé de la série A/B trans,

— le complexe B, l'attaque se faisant sur la face β du stéroïde menant à la série A/B cis.



La formation du complexe A est gênée par la présence de substituants axiaux en 1, 3, 7 et 9.

La formation du complexe B est faiblement gênée par les substituants équatoriaux en 1, 3 et 8 et fortement inhibée par le méthyle angulaire.

Ainsi, dans le cas d'un 3β - Δ^5 -stéroïde, au cours de l'hydrogénation, la formation du complexe A sera beaucoup plus rapide que la formation du complexe B et le seul produit de la réaction sera un dérivé 5α de la série A/B trans.

Mais lors d'une hydrogénation d'un composé 3α - Δ^5 , le substituant axial en 3 entrave la formation du complexe A, d'où vitesse de formation des complexes A et B se rapprochant et formation de dérivé 5 de la série A/B cis en quantité d'autant plus importante que la taille du substituant axial en 3 est plus grande.

Toutefois, les quantités de dérivés de la série A/B transformées, d'après SHOPPEE (94), ne sont jamais bien importantes et, sauf dans le cas d'un radical O-H, n'excèdent jamais 10 %. Et encore, dans le cas du substituant O-H n'atteint-elle que 40 %.

L'hydrogénation des dérivés 3α -amino n'a pas été envisagée ; on peut comparer l'encombrement d'un dérivé aminé à celui provoqué par un hydroxyle ; or, l'hydrogénation de l'holamine en présence de charbon palladié a conduit à un seul produit isolable par cristallisation, le dérivé 5α , donc de la série A/B trans, ce qui est légèrement en désaccord avec la loi énoncée plus haut, l'encombrement d'un NH_2 semblant peu différent de celui d'un CH_3 .

L'hydrogénation de l'holamine a donc été refaite, en remplaçant comme catalyseur le charbon palladié par le platine Adams, de façon à se trouver dans les mêmes conditions opératoires d'hydrogénation que SHOPPEE.

— Les produits d'hydrogénation ont été chromatographiés finement pour permettre de séparer les isomères éventuels,

— les hydrogénations ont été faites sur des dérivés de l'holamine.

1. — L'hydrogénation catalytique en présence de platine réduit porte en même temps sur la fonction cétone en 20 et sur la double liaison en 5-6. Elle mène à un mélange d'isomères 20α - et 20β -hydroxylés, XLVIII. La fonction cétone est rétablie par oxydation à l'anhydride chromique dans la pyridine.

Dans le cas d'hydrogénation catalytique en présence de platine Adams ou de charbon palladié à 15 %, le seul produit isolable par recristallisation dans l'acétate d'éthyle est la funtumine, XLI.

2. — L'essai de mise en évidence des deux isomères en 5 a été mené de façon identique pour les produits d'hydrogénation en présence de platine ou de palladium :

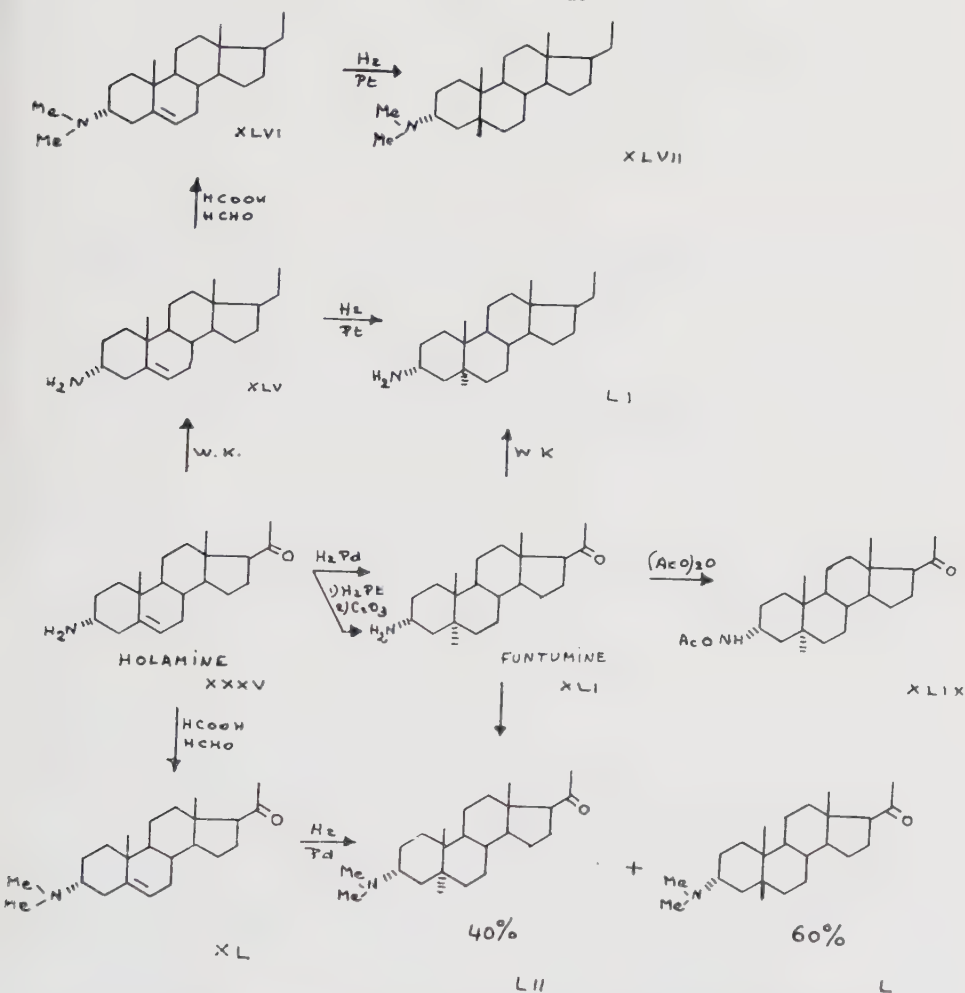
a) par chromatographie fine du produit d'hydrogénation et acétylation de chaque fraction. Les produits acétylés cristallisent plus facilement et permettent mieux l'identification ;

b) par acétylation du produit brut d'hydrogénation et chromatographie du produit acétylé.

Les dérivés acétylés sont moins polaires que les amines primaires et permettent une meilleure séparation chromatographique.

Dans les deux cas, le seul produit isolé est identique à l'acétylfuntumine, XLIX.

TABLEAU n° 19



3. — Trois dérivés de l'holamine sont hydrogénés catalytiquement.

a) La dihydrodesoxo-holamine, XLV, 3 α -amino-pregna-5-ène.

Ce produit obtenu à partir de l'holamine par réduction de Wolff-Kishner, est hydrogéné en présence de platine Adams, en solution

acétique. La chromatographie du produit d'hydrogénation n'a permis d'isoler qu'un seul produit, LI, dont les constantes physiques F , $(\alpha)_D$ et spectre infrarouge, permettent de l'identifier au 3 α -amino-5 α -pregnane, préparé au laboratoire (75) par réaction de Wolff-Kishner sur la funtumine.

b) La diméthyl-dihydro-desoxo-holamine, XLVI, 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène préparé par méthylation au mélange formol-acide formique, selon ESCHWEILER, du produit précédent, XLV, réduit en solution acétique par H_2 en présence de platine Adams, mène au 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane, XLVII, avec un rendement de 100 %.

Le dérivé 5 β , XLVII, a été préparé par HAWORTH comme il a été vu plus haut.

c) La diméthyl holamine, XL, 3 α -diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène hydrogénée en présence de charbon palladié à 15 %, en solution acétique, conduit à un mélange de deux produits dihydrogénés qui sont séparés par chromatographie.

L'élution par le mélange hexane-benzène à parties égales sort 40 % d'un produit, LII, que ses constantes physiques, point de fusion, pouvoir rotatoire et spectre infrarouge permettent d'identifier au 3 α -diméthyl-20-oxo-5 α -pregnane. Ce dernier est préparé par diméthylation de la funtumine (70).

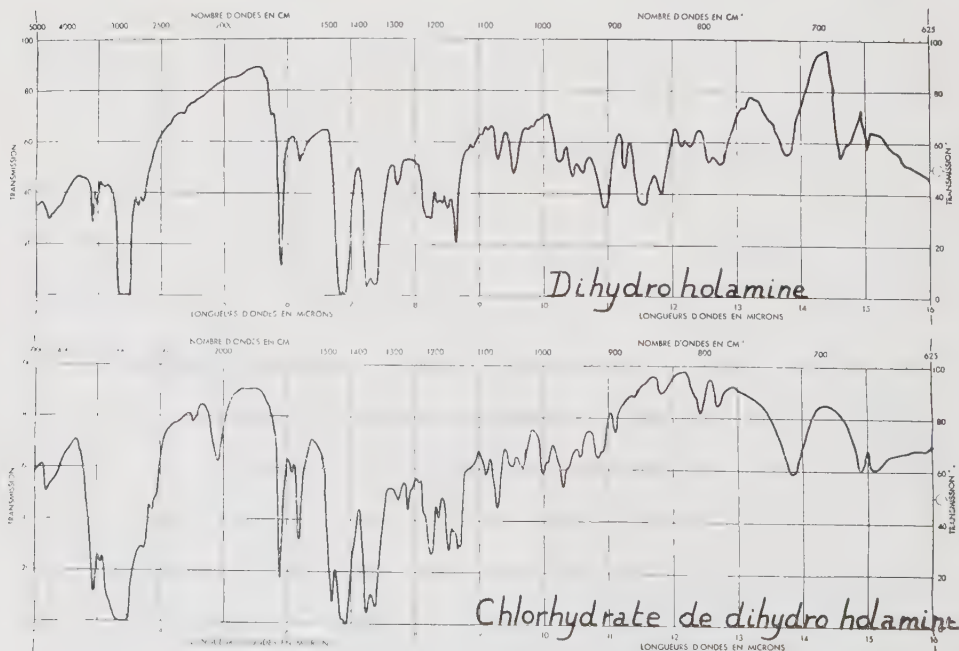


FIG. 27 et 27 bis.

L'élution par le benzène et par l'éther donne 60 % d'un produit L, auquel on assigne la structure de 3 α -diméthylamino-20-oxo-5 β -pregnane.

Cette structure est confirmée par l'obtention, par réduction selon WOLFF-KISHNER, du 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane, XLVII.

En conclusion, ces hydrogénations confirment en partie les travaux de SHOPPEE.

Les groupements NH₂ sont assez peu encombrants et l'hydrogénation catalytique mène, dans ce cas, à la forme A/B trans uniquement.

Dans le cas d'un groupement N diméthyl, la proportion de dérivé de la série A/B cis obtenue n'est pas toujours de 100 % et semble dépendre de la nature de la chaîne en 17.

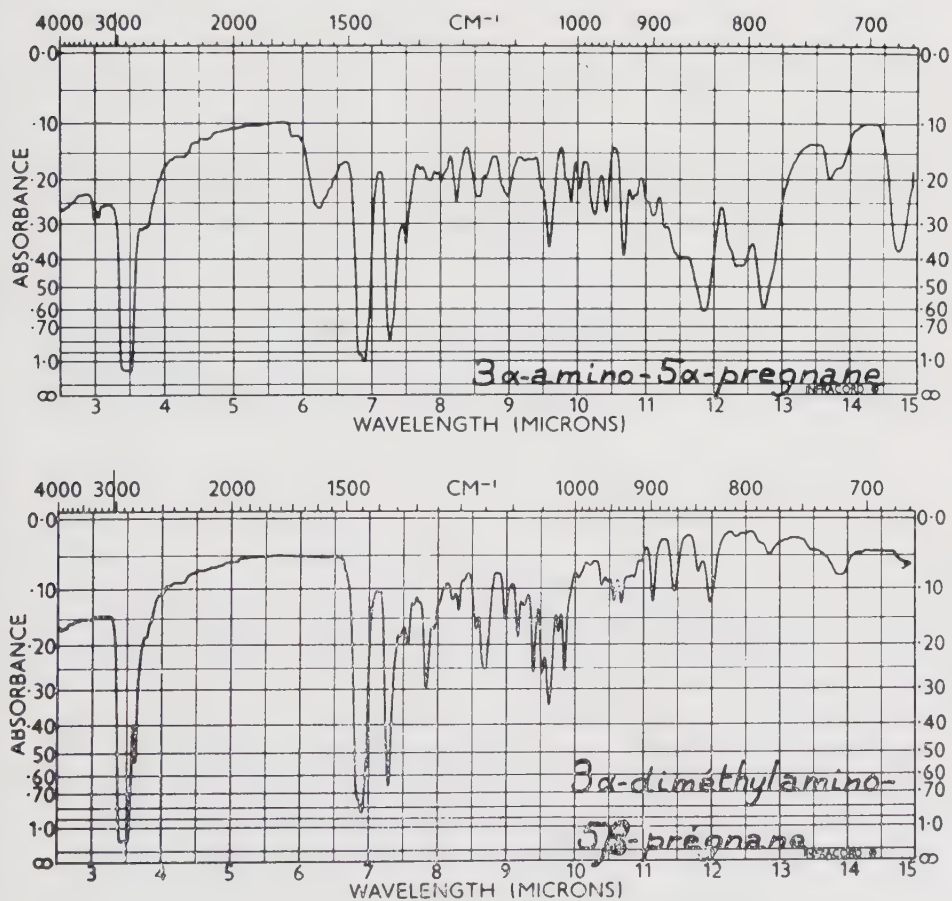


FIG. 28 et 29.

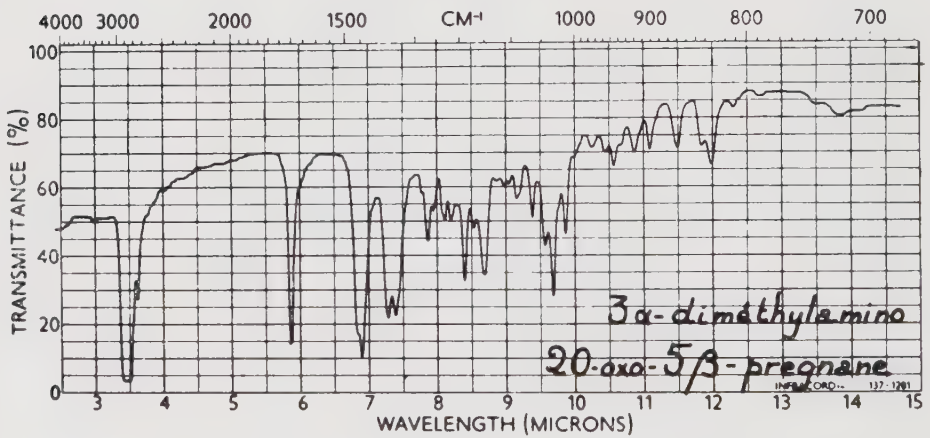
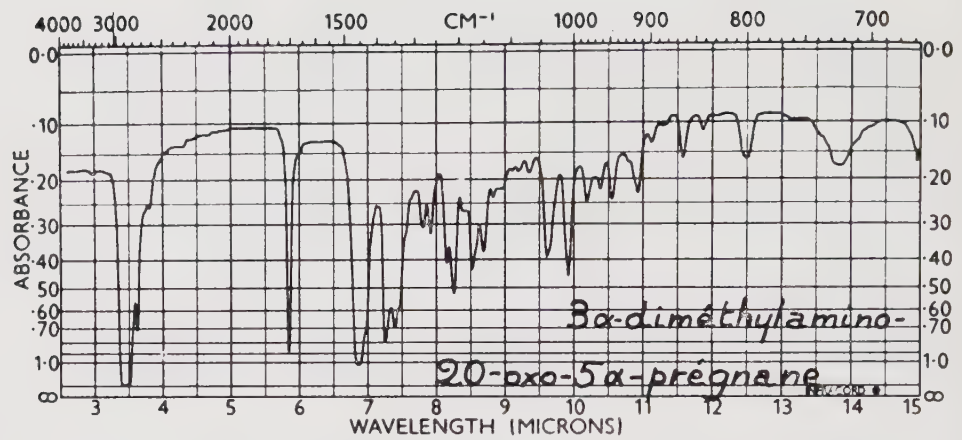


Fig. 30 et 31.

SYNTHÈSES DE L'HOLAMINE, L'HOLAPHYLLAMINE ET L'HOLAPHYLLINE

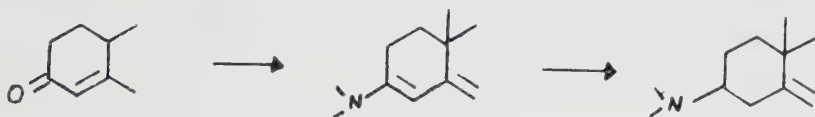
Méthodes d'introduction d'une fonction aminée en 3 sur un Δ^5 -stéroïde.

Elles prennent pour point de départ des stéroïdes possédant en 3 :
une fonction cétone,
une fonction halogénée,
un hydroxyle.

1° Une fonction cétone en 3.

A. — Condensation directe avec une amine secondaire.

Elle mène à une énamine dont la réduction donne naissance à une amine tertiaire.



B. — Réduction des oximes.

Ce procédé est très utilisé en série saturée, car il permet — suivant le moyen de réduction utilisé — d'aboutir à une amine primaire avec en 3 la configuration voulue (39) (86) (87).

Mais la réduction des oximes de cétones en 3 possédant une double liaison conjuguée en 4-5, conduit à des amines primaires possédant la double liaison en 4-5 (141).

La migration de la double liaison ne se produit pas au cours de la réduction et il n'est pas possible d'obtenir les dérivés 3-amino- Δ^5 par cette méthode.

2° Une fonction halogénée en 3.

A. — Aminolyse.

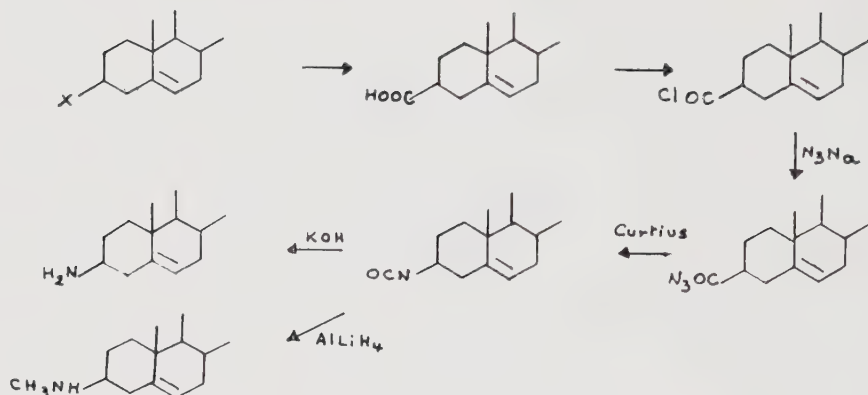
Elle mène aux dérivés aminés. La réaction est identique avec les esters paratoluènesulfoniques ou tosylates et est envisagée plus loin.

B. — SHOPPEE et coll. (109) arrivent aux dérivés 3β -aminés- Δ^5 par l'intermédiaire de l'acide.

L'acide 3β -cholestène carboxylique (acide de Marker) est préparé par réaction de Grignard à partir du dérivé halogéné. Celui-ci est transformé en azide par l'intermédiaire du chlorure d'acide.

Par réarrangement de Curtius, l'azide donne l'isocyanate dont :

- l'hydrolyse alcaline conduit au 3β -amino-cholestène,
- la réduction par l'hydrure d'aluminium-lithium conduit au 3β -méthylamino-cholestène.



3° Les dérivés 3-hydroxylés.

A. — Protection de la double liaison en 5-6.

Ceci permet :

- soit de passer à la cétone et de réduire l'oxime correspondante,
- soit d'obtenir le tosylate en 3 et de préparer ainsi un seul produit par aminolyse (109).

C'est suivant ce procédé que PIERCE et SHOPPEE préparent le 3 α -diméthylamino- Δ^5 -pregnène (voir tableau n° 17).

B. — Passage par les esters paratoluène-sulfoniques (tosylates).

C'est la méthode la plus couramment employée.

Les esters paratoluène-sulfoniques ou tosylates possèdent les propriétés chimiques des dérivés halogénés et le mode de préparation des esters carboxyliques.

Ils ont, sur les dérivés halogénés, l'avantage d'être :

- de préparation plus aisée,
- de ne pas être réduits facilement et
- de donner des réactions de substitution plus rapides (substitution bimoléculaire avec inversion de configuration).

Les réactions des tosylates sont de trois types :

1. — Réaction de substitution, avec inversion de configuration.
2. — Réaction d'élimination (plus facile que chez les dérivés halogénés).
3. — Réarrangement homoallylique chez les dérivés 3 β -tosyloxy- Δ^5 avec production de 1 carbocation mésomère, ce qui, au cours d'une aminolyse, mène à un mélange d'amines isomères.



Pour faire la synthèse des alcaloïdes stéroïdiques extraits des feuilles d'*Holarrhena floribunda*, nous avons utilisé trois méthodes :

1. — A partir de la prégnénolone (tosylate) :

A) Aminolyse du tosylate,
réaction non univoque.

B) Action d'un azoture sur le tosylate,
réaction univoque ou non suivant le solvant utilisé.

2. — A partir de la progestérone :

Synthèse univoque de l'holaphylline.

1. — Aminolyse du tosylate de prégnénolone

La réaction du tosylate de cholestérol avec l'ammoniac liquide a d'abord été étudiée par MAGNANI, JULIAN et COLE (81), qui ont obtenu la 3 β -cholestérylamine et le 3-5-cyclo-6-amino-cholestane, dont la constitution a été établie par dégradation en 3-chloro-6-cholestanone.

Les deux mêmes produits furent obtenus par HAWORTH et coll. (55), en même temps qu'une troisième base.

HAWORTH (56) et SORM (139) ont étudié les réactions semblables avec NH₃, la monométhylamine et la diméthylamine, dans la série du cholestérol et du pregna-5-ène.

Il est établi que l'on aboutit à 3 dérivés :

- une amine 3 β ,
- une amine 3 α ,
- une amine 3-5-cyclo-6 β .

Mais, toutefois, cette réaction est mal éclaircie.

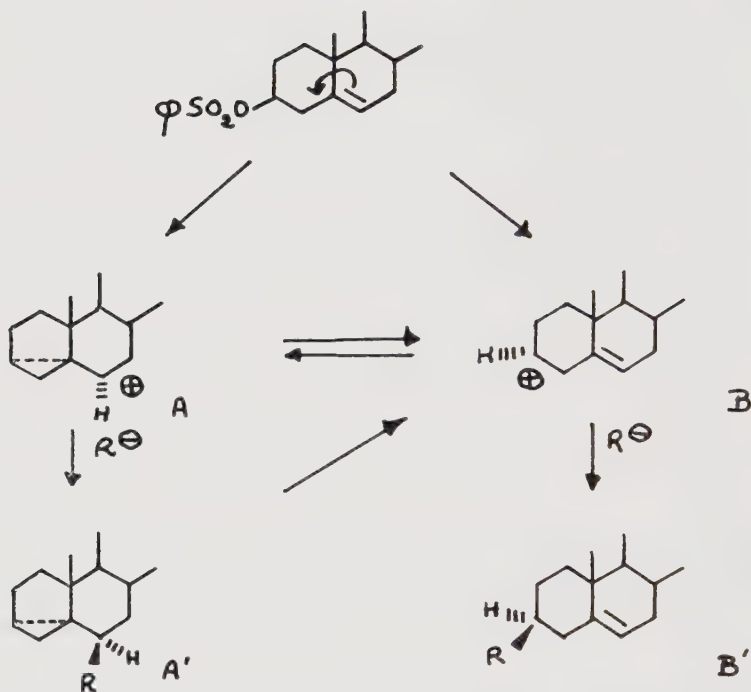
En plus de la réaction d'élimination du groupe tosylye avec formation d'une double liaison, il se fait deux types de réactions de substitution au cours de l'aminolyse des tosylates :

1° Une réaction de type Sn₂, la réaction se faisant sans intervention de la double liaison.

Il y a attaque directe de la molécule et substitution avec inversion de la configuration, comme dans la série saturée.

Cette réaction mène au dérivé 3 α lorsque l'on part du dérivé 3 β -tosyloxy.

2° Une transposition homoallylique, uniquement dans le cas d'un 3 β -tosyloxy, avec équilibre entre les deux formes A et B.



D'après JULIAN et MAGNANI, c'est le 3-5-cyclo-6 β -amino qui est le produit intermédiaire, il est isomérisé ensuite en présence d'un excès d'amine en dérivé 3 β .

A l'appui de sa thèse,

il augmente la proportion de dérivé 3 β formé en fonction de la durée de chauffage,

en rechauffant du 6-amino-3-5-cyclo-cholestane, en présence d'ions NH_4^+ et d'une amine, il obtient à nouveau de cholestérylamine.

Les proportions obtenues des différentes amines varient suivant les conditions opératoires : température, durée de chauffage, solvant.

Mais, dans des conditions semblant identiques, on note des variations.

HAWORTH et coll. signalent des cas où ils obtiennent les trois dérivés ou uniquement le dérivé 3 α (55). Opérant dans les mêmes conditions que JULIAN et MAGNANI, ils obtiennent trois produits de réaction, alors que les premiers auteurs n'obtiennent que les dérivés 3 β et 3-5-cyclo-

Nous avons toutefois utilisé l'aminolyse du tosylate de prégnénone pour préparer les dérivés aminés, méthylaminés et diméthylaminés.

Action de la diméthylamine sur le tosylate de prégnénolone

Le tosylate de prégnénolone, LIII (17), est obtenu par action dans la pyridine anhydre, du chlorure d'acide paratoluène sulfonique sur la prégnénolone.

Il est traité dans un autoclave, treize heures à 100°, par une solution à 30 % de diméthylamine dans le benzène.

Après élimination de la diméthylamine en excès et du benzène, par distillation, le produit de la réaction, lavé à l'eau alcaline, est extrait à l'éther.

L'éther est traité par de l'acide chlorhydrique qui précipite les produits aminés, insolubles dans l'éther sous forme de chlorhydrates.

Le produit soluble dans l'éther en milieu acide est caractérisé comme étant le 20-oxo-pregna-3-5-diène, LIV, et forme 28 % du produit de la réaction.

Les chlorhydrates insolubles dans l'éther sont décomposés pour passer à la base.

La chromatographie du mélange de bases permet de séparer :

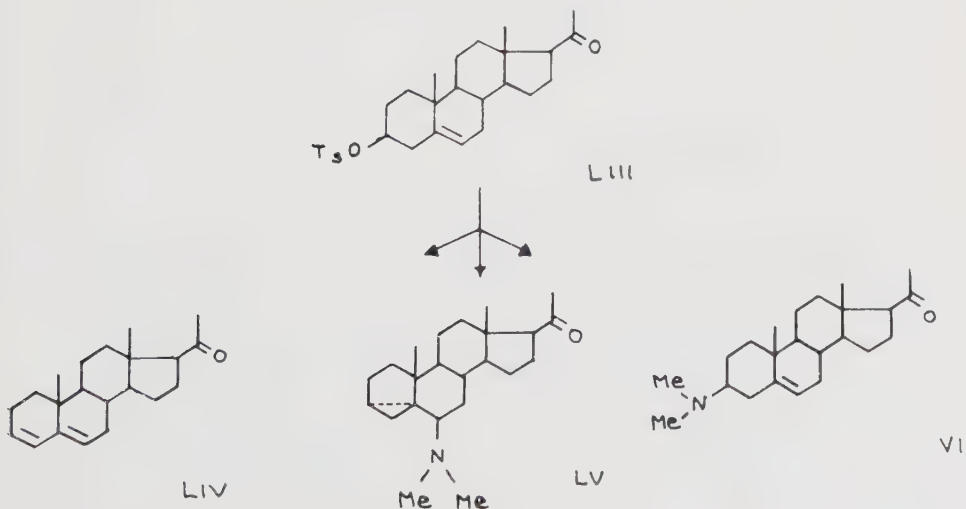
41 % d'un produit F : 109° par élution à l'hexane et au mélange hexane-éther 10 %, LV,

31 % de produit F : 121° par élution à l'éther, VI.

Le produit F 121° est identifié par son point de fusion, son pouvoir rotatoire et son spectre infrarouge à la méthylholaphylline, c'est-à-dire au 3 β -diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

Le produit F 109° est différent du 3 α -diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène. Son analyse le donne comme un isomère du 3-diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène. Agité en solution acétique, en présence

TABLEAU n° 20



de charbon palladié à 15 %, en atmosphère d'hydrogène pendant quarante-huit heures, il ne consomme pas d'hydrogène.

Son spectre infrarouge (fig. 32) possède les bandes d'absorption dans la région de 1 010-1 020 et à 890 cm^{-1} , qui ont été expérimentalement identifiées à la déformation du noyau cyclopropane et données pour les dérivés substitués du cyclopropane par DERPER, PICKETT et BOORD (29).

Ces indications, ainsi que le mode de formation, font attribuer au dérivé, VI, la structure du 3-5-cyclo-6-diméthylamino-20-oxo-pregnane.

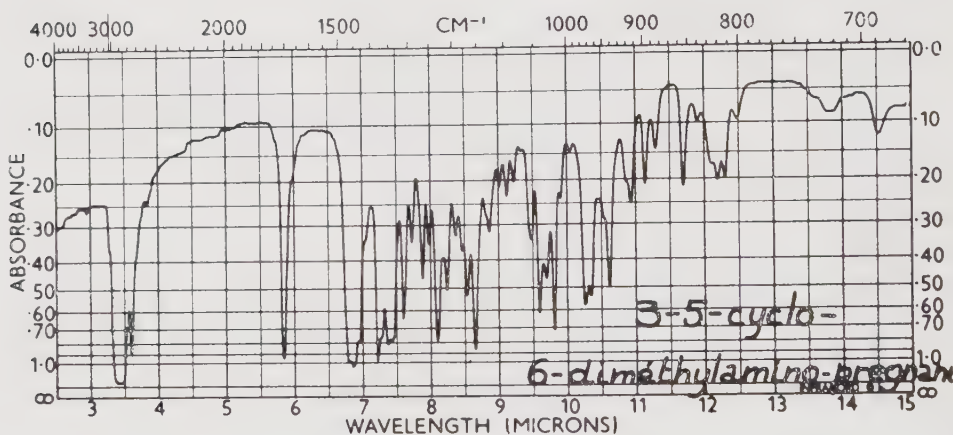


FIG. 32.

Action de la méthylamine sur le tosylate de prégnénolone

L'action de la méthylamine en solution à 10 % dans le benzène sur le tosylate de prégnénolone donne naissance à un mélange de trois produits, dont on sépare :

1) un produit non azoté, séparé grâce à sa solubilité dans l'éther en milieu acide chlorhydrique, LIV, ce produit est identifié au 20-oxo-pregna-3-5-diène ;

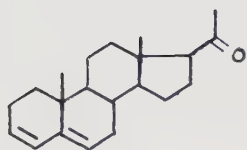
2) deux produits azotés précipités de leur solution étherée par addition d'acide chlorhydrique.

La décomposition des chlorhydrates donne un mélange de bases, qui sont séparées par chromatographie sur alumine. Un produit est élué par l'éther, LVI, et obtenu cristallisé sous forme de chlorhydrate.

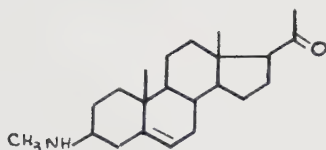
Un deuxième est élué par l'éthanol, I, et cristallisé dans le méthanol. Il est identifié par son point de fusion, son pouvoir rotatoire et son spectre infrarouge à l'holaphylline. C'est le 3 β -méthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

— Le produit LVI est le 3-5-cyclo-6-diméthylamino-20-oxo-pregnane.

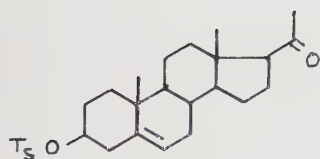
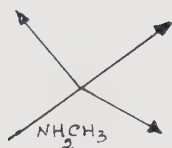
TABLEAU n° 21



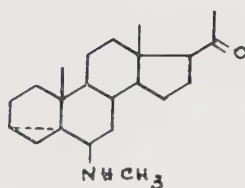
LIV



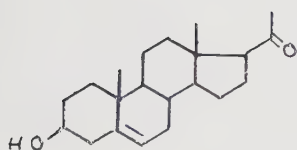
I



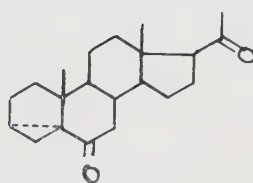
LVIII



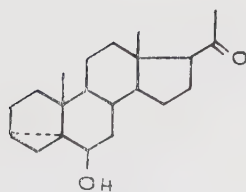
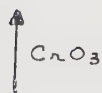
LVI



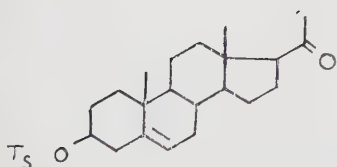
LVIII



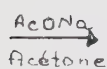
LVII



LIX



LIII



L'analyse du chlorhydrate, $C_{22}H_{35}ON \cdot ClH$, indique que c'est un isomère de l'holaphylline.

La méthylation par la méthode d'Eschweiler-Clarke au mélange formol acide formique ne mène pas à un composé diméthylé à l'azote, mais à un corps ne possédant plus d'azote, LVIII, $C_{21}H_{32}O_2$, qui est identifié par son point de fusion, son pouvoir rotatoire et son spectre infrarouge à la prégnénolone.

LABLER et CERNY (88) indiquent que les 3-5-cyclo-6-amino-stéroïdes par action du mélange formol-acide formique dans les conditions de la réaction de Eschweiler conduisent à l'alcool 3 β correspondant par désamination et réarrangement.

Une preuve supplémentaire de cette structure est donnée par la désamination oxydative selon Ruschig. Cette réaction permet d'obtenir un composé, LVII, $C_{21}H_{30}O_2$ possédant deux fonctions cétone et identifié au 3-5-cyclo-6-20-dioxopregnane qui a été préparé :

Préparation du 3-5-cyclo-6-20-dioxo-pregnane (12) (80).

Le 3-5-cyclo-6 β -ol-20-oxo-pregnane, LIX, est obtenu par solvolysé du tosylate de prégnénolone dans l'acétone en présence d'acétate de potassium (106).

Oxydé par l'anhydride chromique en solution acétique, l'alcool conduit à la dicétone, LVII, 3-5-cyclo-6-20-dioxo-pregnane, identique au produit obtenu par réaction de Ruschig à partir du dérivé, LVI.

Le corps, LVI, obtenu par méthylaminolyse du tosylate de prégnénolone est donc bien le 3-5-cyclo-6 β -méthylamino-20-oxo-pregnane.

Action de l'ammoniac sur le tosylate de prégnénolone.

Cette réaction a aussi été effectuée suivant plusieurs protocoles ; elle a permis, suivant les techniques utilisées, d'obtenir :

les dérivés 3 β -XXXIII et 3-5-cyclo, LX,

— le mélange des dérivés 3 α , 3 β , 3-5-cyclo,
mais dans ce deuxième cas, le rendement de la réaction a été très mauvais,

uniquement le dérivé 3 α , XXXV (Holamine).

Devant les mauvais rendements de cette réaction et le manque de stéréospécificité, nous avons abandonné l'aminolyse des tosylates et cherché des méthodes univoques.

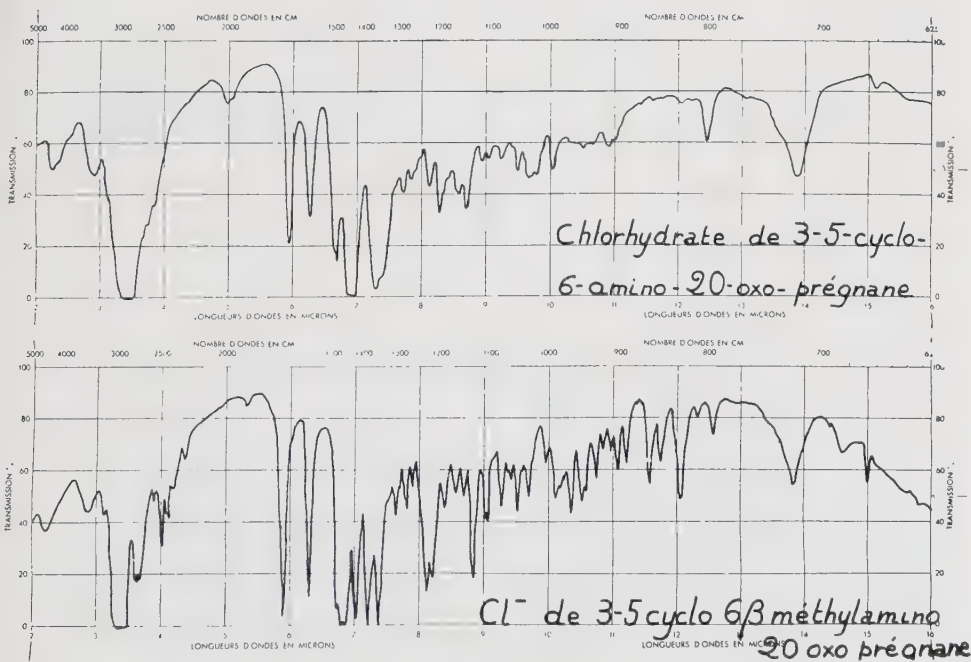
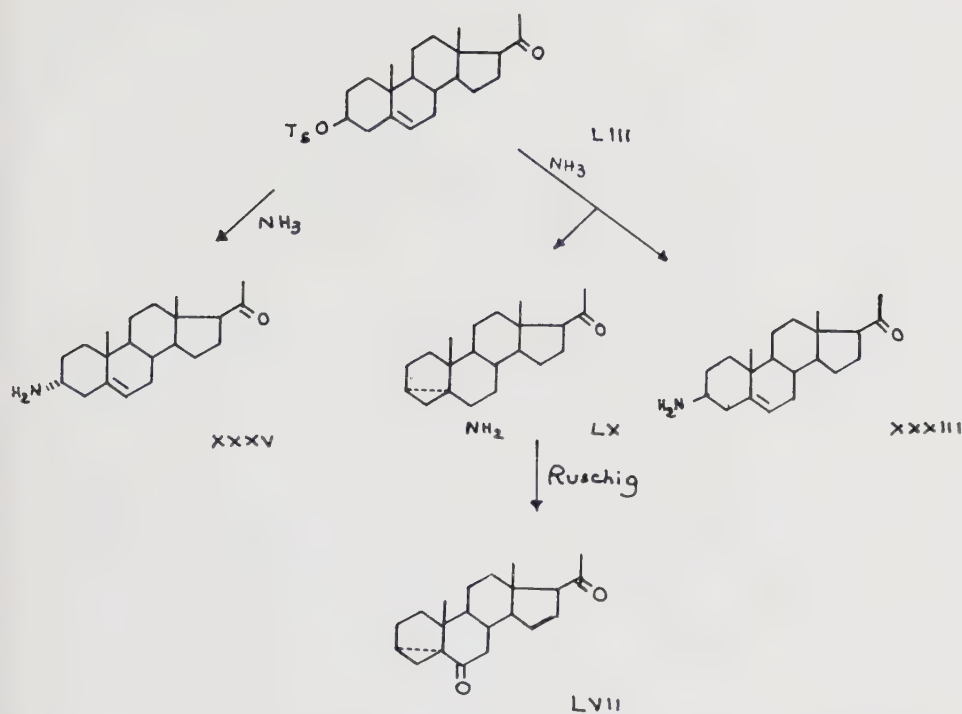


FIG. 33, 34.

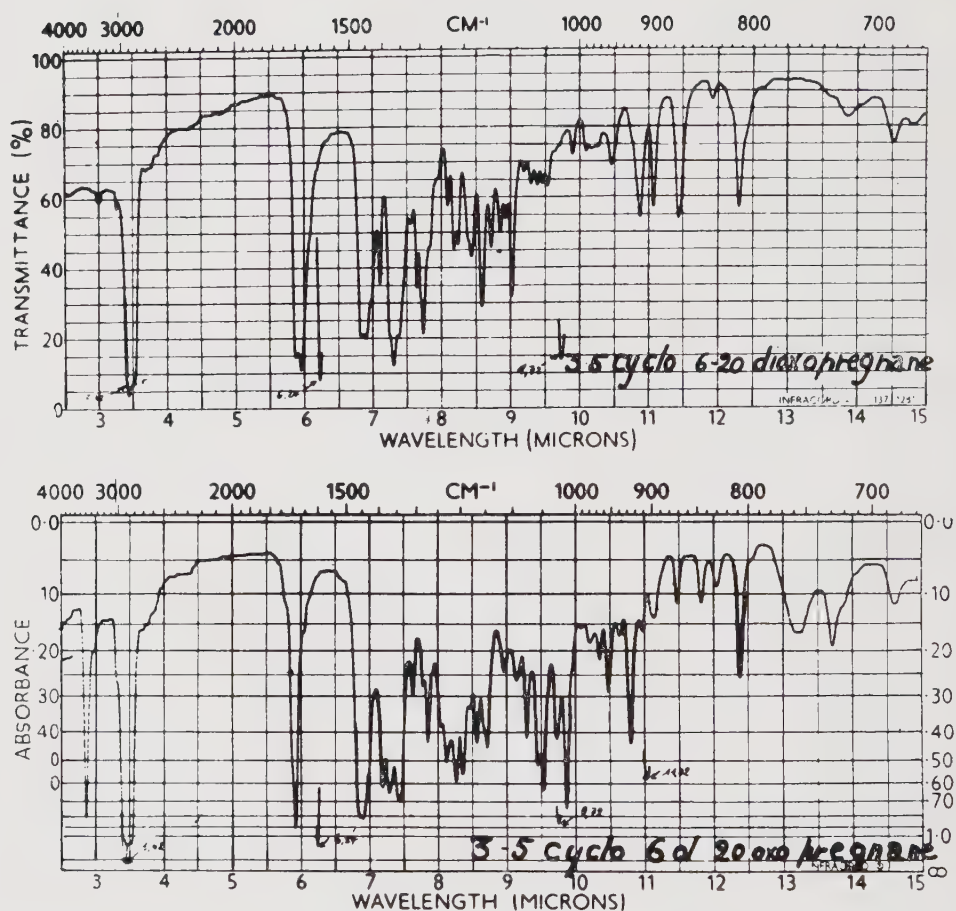


FIG. 35 et 36.

2. — Action d'un azoture sur le tosylate de prégénolone

Le groupement azido : RN_3 peut être réduit par l'hydrure d'aluminium lithium (15) et conduit à une fonction amine primaire.

Les azides se préparent facilement (65) par substitution nucléophile des dérivés tosyloxy par l'anion N_3^- .

BARTON (4), utilise cette méthode pour introduire une fonction aminée en 3 dans un stéroïde Δ^5 insaturé.

Il effectue la synthèse de la conessine ; il montre que l'action de l'azoture de lithium, en solution dans le méthanol sur le 3β -20 β -ditosyloxy-pregna-5-ène, conduit au 3β -20 α -diazido-pregna-5-ène. La structure de ce composé est établie par réduction à l'hydrure d'aluminium-lithium menant à une amine primaire qui, après méthylation, a été identifiée à un composé connu, le 3β -20 α -bis-diméthylamino-pregna-5-ène.

Le fait remarquable est la rétention de configuration en 3 et l'inversion de configuration en 20.

Effectuant la synthèse de la conessine, par ce procédé, il obtient à côté de la conessine en faible rendement, de la prégnénolone dont la présence est mal expliquée.

La formation de prégnénolone, ainsi que la rétention de configuration en 3, sont expliqués (5) par le phénomène i-stéroïde (41) (on appelle i-stéroïde, les dérivés 3-5 cyclo ; le phénomène i-stéroïde est dû à un réarrangement homoallylique).

En effet, lors de la synthèse de la conessine, BARTON n'isole pas l'amine primaire intermédiaire, mais méthyle la diamine primaire par le procédé d'Eschweiler.

LABLER et CERNY (88) ont montré que l'action de l'acide formique et du formol dans ces conditions, sur le 3-5-cyclo-6-amino-cholestane, provoque une désamination avec isomérisation en cholestérol.

Dans le cas de la synthèse de la conessine, au cours de la formation de l'azide, il y a eu phénomène i-stéroïde, ce qui explique la rétention de configuration en 3, et deux azides sont formés : le 3 β -azido, le 3-5-cyclo-6 β -azido.

La réduction de ces azides donne respectivement les fonctions amine primaire en 3 β et en 6 β .

Au cours de la méthylation, il y a donc formation de l'alcool 3 β à partir de 3-5-cyclo-6-amino.

HERTLER et COREY (62) utilisent la formation et la réduction des azides pour introduire en 3 une fonction aminée dans une *molécule stéroïde saturée*.

Ils obtiennent une inversion de configuration en 3, aboutissant au 3 α -amino à partir du 3 β -tosyloxy.

Ils utilisent le *diméthylsulfoxyde* comme solvant pour la préparation de l'azide.

Les synthèses de l'holaphyllamine et de l'holamine sont réalisées à partir du 3 β -tosyloxy-20-oxo-pregna-5-ène, LXII, ou de son oxime, le 3 β -tosyloxy-20-oximo-pregna-5-ène ;

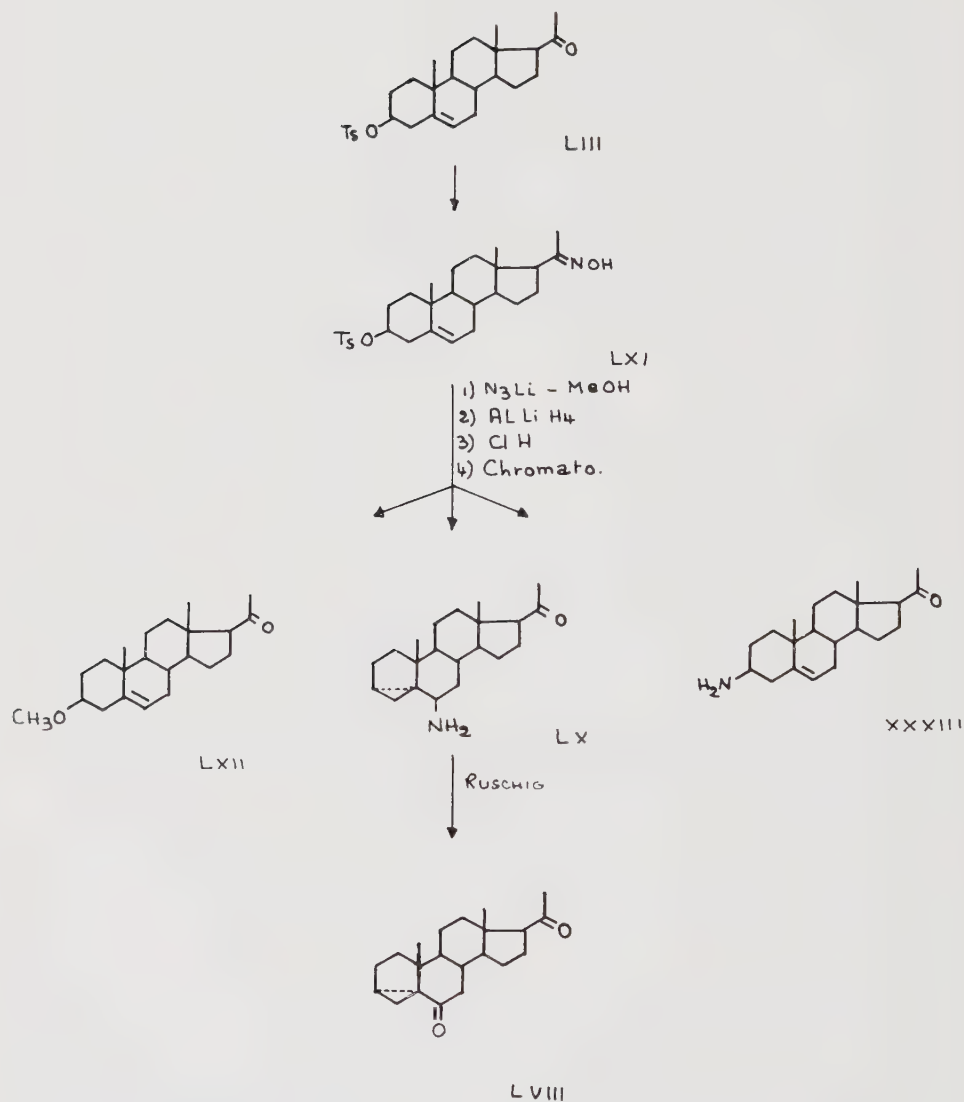
Synthèse de l'holaphyllamine

Le 3 β -tosyloxy-20-oximo-pregna-5-ène, LXI, est obtenu par chauffage dans le benzène du tosylate de prégnénolone en présence de chlorhydrate d'hydroxylamine et d'acétate de sodium sec.

Le 3 β -tosyloxy-20-oximo-pregna-5-ène, LXI, est chauffé 5 heures en présence d'une solution environ 0,9 molaire d'azoture de lithium dans le méthanol.

L'azoture de lithium est préparé selon HUISGEN (66) par déplacement de l'azoture de sodium par le chlorure de lithium. Il pré-

TABLEAU n° 23



sente l'avantage, sur l'azoture de sodium, d'être soluble dans le méthanol.

Le produit brut de la réaction, huileux, possède au spectre I. R. une bande d'absorption à 2500 cm^{-1} correspondant à une triple liaison $C \equiv N$.

Le produit brut de la réaction est réduit par $ALiH_4$, en solution dans l'éther anhydre.

La fonction cétone est ensuite récupérée par hydrolyse de l'oxime par ébullition dans le méthanol chlorhydrique aqueux. Par extraction en milieu acide par l'éther, on sépare 35 % de produit non basique, LXII, qui possède le même point de fusion et le même pouvoir rotatoire que le 3 β -méthoxy-20-oxo-pregna-5-ène préparé par BUTENANDT (17) par ébullition du tosylate de prégénolone dans le méthanol.

Les 65 % de mélange d'amines primaires sont chromatographiés sur alumine.

L'élution au mélange benzène-éther à parties égales permet d'isoler 30 % environ d'un composé, LX, obtenu cristallisé sous forme de chlorhydrate.

L'élution par le mélange éther-éthanol 5 % et 50 % permet d'isoler 35 % de 3 β -amino-20-oxo-pregna-5-ène, XXXIII, obtenu cristallisé sous forme de chlorhydrate, identique par son spectre infrarouge et son pouvoir rotatoire au chlorhydrate d'holaphyllamine naturelle.

La structure du composé LX est démontrée par désamination selon la méthode de Ruschig, qui conduit à une dicétone, identique par ses constantes physiques et spectre infrarouge au 3-5-cyclo-6-2-dioxo-pregnane, LVII, obtenu précédemment par désamination de la 3-5-cyclo-6 β -méthylamino-20-oxo-pregnane et à partir du tosylate de prégénolone.

Synthèse de l'holamine

Cette synthèse est effectuée avec ou sans protection de la fonction cétone, en 20.

A) Avec protection de la fonction cétone.

Le 3 β -tosyloxy-20-oximo-pregna-5-ène, LXI, est traité 5 heures à 90° dans du *diméthylsulfoxyde* sec, par de l'azoture de sodium. Cette réaction permet d'obtenir comme unique produit de la réaction et en bon rendement l'azide 3 α , LXIII, C₂₁H₃₃N₃O, cristallin, dont le spectre I. R. possède la bande caractéristique due à la liaison C = N à 2 500 cm⁻¹.

L'azide peut être obtenu cristallisé dans le méthanol. La réduction de LXIII, en solution dans l'éther anhydre par l'hydruure d'aluminium lithium, conduit à l'amine primaire oxime, XXXVII, C₂₁H₃₃ON₂, dont le point de fusion, le pouvoir rotatoire et le spectre infrarouge permettent de l'identifier à l'oxime de l'holamine.

L'hydrolyse de XXXVII, par ébullition dans le méthanol chlorhydrique aqueux, donne naissance à l'holamine caractérisée par ses constantes physiques, XXXV.

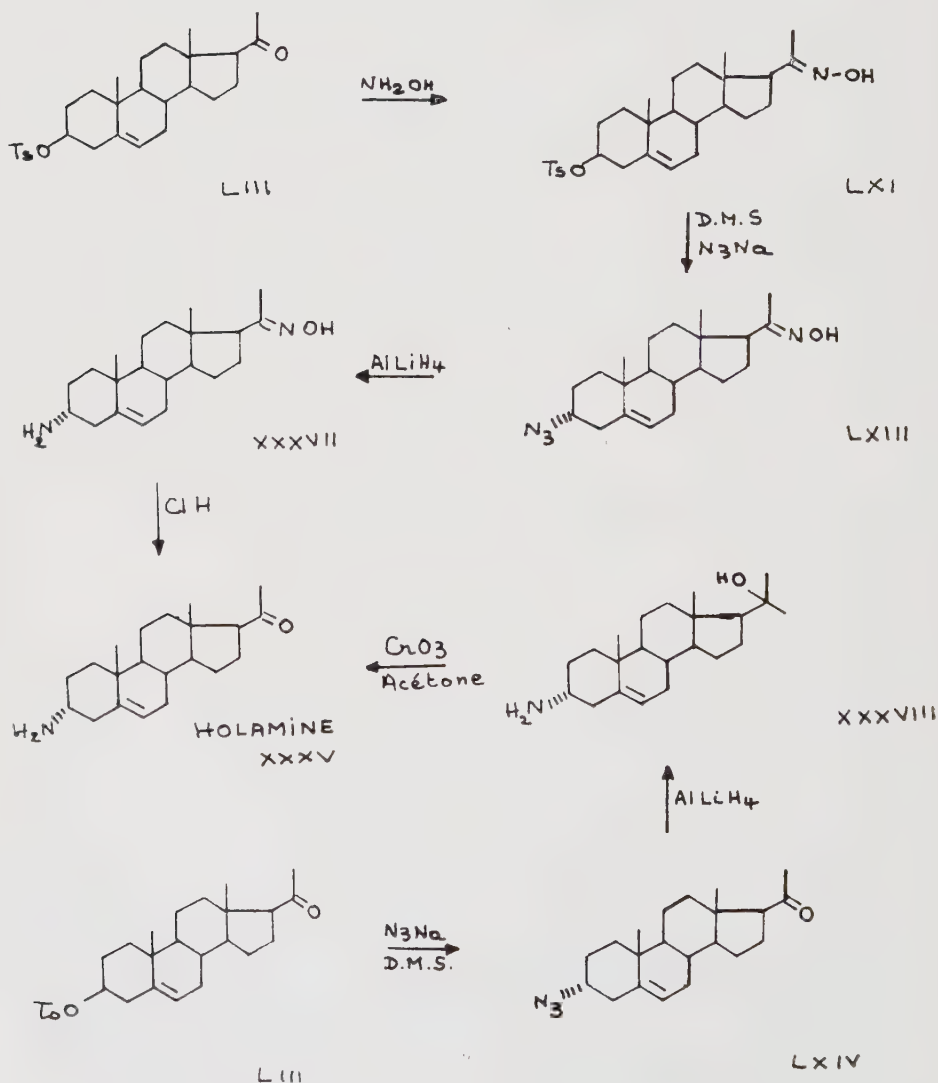
B) Sans protection de la fonction cétone.

L'hydrolyse de l'oxime étant assez difficile, la réaction est faite sans protection de la fonction cétone en 20.

Le tosylate de prégnénolone, LIII, en solution dans le *diméthylsulfoxyde* sec, est traité pendant 4 heures à 90° par de l'azoture de sodium.

L'azidolyse donne naissance à un seul produit, LXIV, $C_{21}H_{31}ON_3$, possédant le spectre infrarouge caractéristique des azides et cristallisant dans le méthanol.

TABEAU n° 24



La réduction de LXIV par l'hydruure d'aluminium lithium, en plus de la fonction azide en 3, réduit la fonction cétone en 20, en donnant un mélange des deux alcools isomères 20 α et 20 β , l'isomère 20 β étant en quantité prédominante et cristallisant dans l'acétate d'éthyle.

Cet alcool, XXXVIII, est identique par son point de fusion, son pouvoir rotatoire et son spectre infrarouge, à l'holaminol, obtenu par réduction à l'aide de BH.K de l'holamine.

Le mélange d'alcools amine est oxydé par le CrO₃, en milieu sulfurique dans l'acétone, à froid, selon DJERASSI (32) et mène à l'holamine, XXXV.

L'identification est faite par les points de fusion, les pouvoirs rotatoires et spectre infrarouge.

En résumé, l'attaque du 3 β -tosyloxy-20-oxo-pregna-5-ène par un azoture alcalin se fait :

— *dans le méthanol*, avec participation de la double liaison et réarrangement homoallylique aboutissant à la formation de deux dérivés, le 3-5-cyclo-6 β -azido et le 3 β -azido, la formation du dérivé 3-azido se faisant avec rétention de configuration ;

— *dans le diméthylsulfoxyde*, avec inversion de la configuration sans participation de la double liaison ; la réaction est une substitution nucléophile bimoléculaire.

Il faut donc envisager le rôle du diméthylsulfoxyde.

Le diméthylsulfoxyde est un solvant dipolaire aprotique, ayant la propriété de solvater les cations d'une façon *comparable à celle de l'eau*, alors que les anions sont très peu solvatés.

Cette propriété a été mise en évidence (121) sur le chlorure de potassium, le picrate de potassium, ce qui a montré la présence d'ions Cl⁻ et picrate⁻ non solvatés, alors que les ions K⁺ le sont fortement.

Il en est vraisemblablement de même dans le cas de l'azoture de sodium. MILLER et PARKER (99) ont montré que, dans un solvant dipolaire aprotique, il y a « une résistance stérique » à la solvation des petits anions. C'est ainsi que les vitesses de réaction de substitution nucléophile bimoléculaire dans un système aromatique sont environ 10⁵ fois plus grandes dans un solvant dipolaire aprotique que dans un solvant protonique tel que le méthanol. D. J. CRAM et coll. (25) notent que la substitution du diméthylsulfoxyde aux solvants hydroxylés peut augmenter d'une façon considérable la vitesse de certaines réactions et en particulier des réactions de substitution nucléophile.

Dans le cas de la réaction de l'azoture de sodium sur le système tosyloxy-3 β - Δ^5 -stéroïde, il apparaît que tout concourt à favoriser le mécanisme S_N2 sans intervention du phénomène i-stéroïde.

En effet :

— le solvant favorise la formation d'un ion N₃⁻ non solvatoé c'est-à-dire plus réactionnel ;

— ce solvant n'est pas favorable à la formation de l'ion OTs^- et du carbocation stéroïde ;

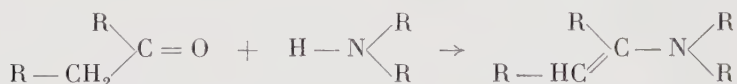
— de plus, on sait que N_3^- est très nucléophile.

Il y a donc trois raisons pour que la vitesse de réaction soit augmentée de façon considérable dans le sens d'une réaction de substitution avec inversion de configuration.

3. — Synthèse de l'holaphylline par l'intermédiaire de l'énamine.

Une cétone traitée par une amine secondaire conduit à un composé d'addition appelé énamine.

MANNICH, le premier (96), cite des exemples de préparations d'énamines.



HERR et HEYL (61) donnent, par la suite, des méthodes générales de préparation des énamines, plus particulièrement appliquées aux stéroïdes et des variantes de la méthode de Mannich.

Ils utilisent, en particulier, l'acide paratoluène sulfonique comme catalyseur, pour améliorer la réaction et pour obtenir l'énamine de la progestéroné (63).

Les fonctions cétoniques en 3 sont plus réactives que les fonctions cétoniques en 20, ces dernières ne donnant pas, ou difficilement, des énamines.

La formation des énamines par condensation avec une amine tertiaire et élimination d'eau semble être une réaction caractéristique des cétones en 3, dans les stéroïdes.

Après avoir étudié divers modes de préparation d'énamine (78), JOHNSON et coll. utilisent leur intermédiaire pour la synthèse de la conessine (79).

En effet, en dépit de la résistance connue de tels systèmes à la réduction par l'hydrure d'aluminium lithium (143), JOHNSON et coll. ont trouvé que la réduction des énamines se fait bien avec le borohydrure de potassium et mène à l'amine tertiaire correspondante, avec orientation en 3β de cette fonction.

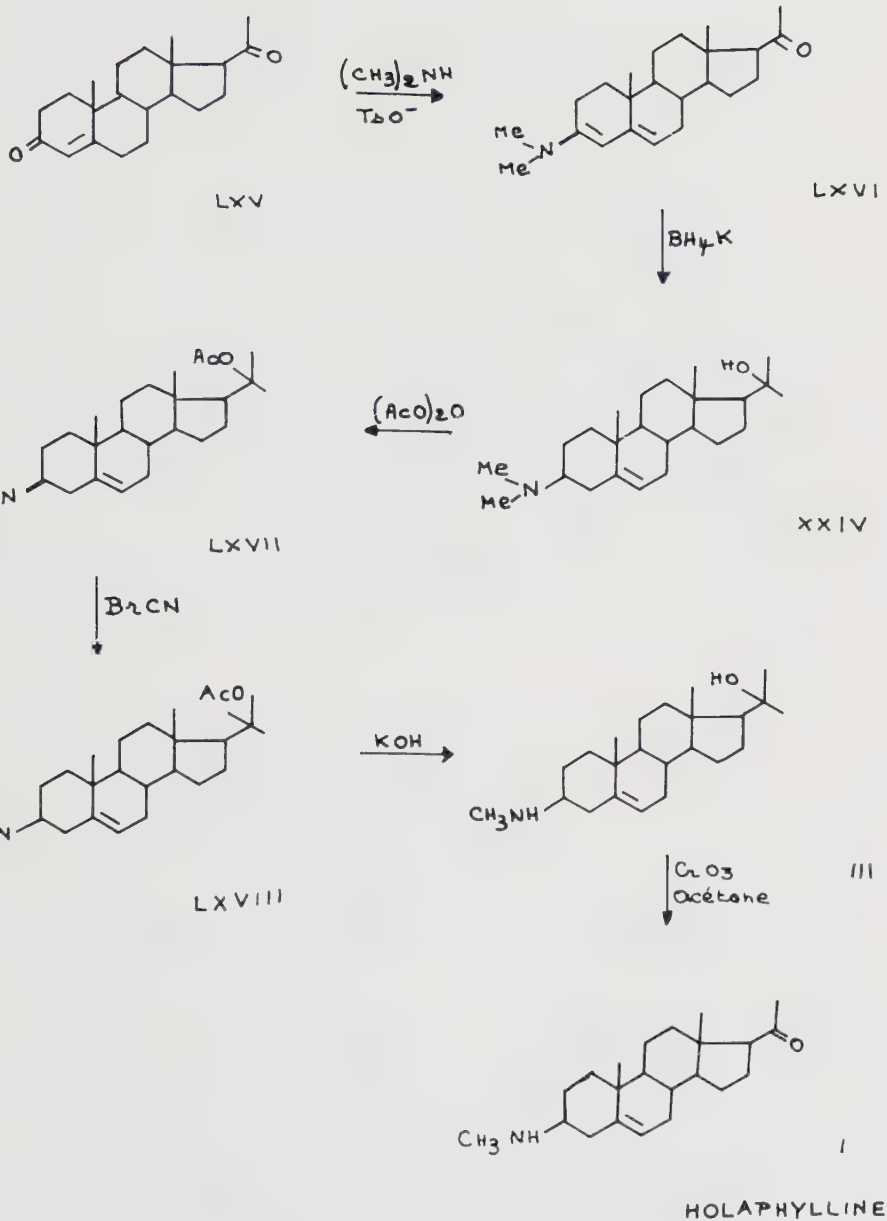
Les énamines stables vis-à-vis des agents acides sont rapidement hydrolysées en présence d'alcalis (34) ou par ébullition prolongée dans l'alcool.

Cette méthode est donc utilisée pour la synthèse de l'holaphylline.

L'énamine, LXXI, est préparée par condensation, en tube scellé, à 100° de la progestérone, LXV, avec de la diméthylamine anhydre en présence d'acide paratoluènesulfonique utilisé comme catalyseur et de sulfate de calcium anhydre utilisé comme desséchant.

L'énamine obtenue, LXVI, $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{ON}$ cristallise dans l'acétone. La réduction de l'énamine, par le borohydrure de potassium, porte en même temps sur la double liaison en 3-4 et sur la fonction cétone

TABLEAU n° 25



en 20 qu'elle transforme en alcool possédant la configuration 20 β (87).

L'alcool amine tertiaire obtenu, XXIV, $C_{33}H_{39}ON$, est le 3 β -diméthylamino-20 β -hydroxy-pregna-5-ène.

Il est identique au méthylholaphyllinol préparé à partir de l'holaphylline par méthylation suivant Eschweiler-Clarke et réduction au borohydrure de potassium.

Le produit XXIV est acétylé par l'anhydride acétique en milieu pyridiné de façon à protéger la fonction alcool en 20 lors de la déméthylation selon Von Braun (148).

Le dérivé acétylé, LXVII, traité par une solution étherée de bromure de cyanogène donne 85 % de cyanamide, LXVIII, qui présente une bande d'absorption caractéristique dans l'infrarouge à $2\,250\text{ cm}^{-1}$ dû à une triple liaison $C \equiv N$; le produit secondaire, 15 %, est un bromure d'ammonium quaternaire.

La cyanamide, LXVIII, est hydrolysée par la potasse alcoolique, qui saponifie en même temps la fonction ester en 20.

Le produit de la réaction, III, $C_{22}H_{35}ON$, est le 3 β -méthylamino-20 β -hydroxy-pregna-5-ène. Il est identique à l'holaphyllinol obtenu par réduction au borohydrure de potassium de l'holaphylline.

Le dérivé 20 β -hydroxylé est oxydé en cétone correspondante par l'anhydride chromique en solution sulfurique, à froid dans l'acétone suivant la technique indiquée par DJERASSI (32).

Le dérivé 3 β -méthylamino-20-oxo-pregna-5-ène obtenu, I, $C_{22}H_{33}ON$ est identique par son point de fusion, son pouvoir rotatoire et son spectre infrarouge à l'holaphylline naturelle.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

- Les points de fusion ont été déterminés au tube capillaire et sont corrigés.
- Les pouvoirs rotatoires ont été mesurés en tube de 1 dm à l'aide d'un polarimètre Zeiss, pour la raie D du sodium.
- Les spectres I. R. ont été effectués (produit en suspension dans le nujol, sauf indication contraire) au spectrographe Baird à double faisceau ou au spectrographe Perkin-Elmer.
- Les spectres U. V. ont été déterminés en solution dans l'alcool à 96° purifié pour spectrographie (sauf indication spéciale) en cuve de 1 cm à l'aide d'un spectrophotomètre Jobin et Yvon type Maroc.
- Les chromatographies ont été réalisées sur colonne d'alumine standardisée selon Brockmann, marque Merck.

Le plan suivi dans la partie théorique est conservé dans la partie expérimentale.

1. Extraction des alcaloïdes.
2. Structure de la triacanthine.
3. Synthèse de la triacanthine et de ses isomères.
4. Structure de l'holaphylline.
5. Structure de l'holaphyllamine.
6. Structure de l'holamine.
7. Synthèse des dérivés 3-aminés- Δ -5.

Dans chacun de ces chapitres, les expériences sont décrites, autant que possible, dans l'ordre où elles ont été évoquées dans la partie théorique.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

I. — ALCALOÏDES DES FEUILLES DE L'HOLARRHENA FLORIBUNDA

Extraction.

L'extraction a été menée sur divers échantillons d'origines ou d'époques de récolte différentes.

Quelle que soit d'époque de la récolte ou l'origine, l'extraction a été menée de façon identique.

Holarrhena du Togo, récolte de décembre.

1^o Extraction des alcaloïdes

30 kg de feuilles sont pulvérisés puis alcalinisés par CO_3Na_2 et NH_4OH puis extraits au soxhlet par du chlorure de méthylène.

Le solvant est éliminé complètement et l'extractum est repris par 10 litres de méthanol et 1 litre d'acide acétique. A la solution on ajoute 4 litres d'eau et on laisse une nuit au repos.

Le précipité est séparé par filtration sur buchner et lavé plusieurs fois avec du méthanol contenant 40 % d'eau.

La solution méthanolique acétique est lavée plusieurs fois avec de l'éther de pétrole.

2^o Séparation des bases A et B

La solution méthanolique acétique est alcalinisée par de l'ammoniaque en présence d'une quantité assez importante d'éther de pétrole. Quand la solution est alcalinisée, on dilue par 10 litres d'eau. A ce moment on observe la précipitation des alcaloïdes insolubles dans l'éther de pétrole. La solution et l'insoluble sont extraits à l'éther de pétrole de nombreuses fois.

L'éther de pétrole est lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium et distillé. Le résidu pesant 108 g constitue les bases B.

Les alcaloïdes insolubles dans l'éther de pétrole sont dissous dans le chlorure de méthylène. La phase aqueuse est extraite au chlorure de méthylène jusqu'à réaction de Mayer négative. Les phases chlo-

rure de méthylène sont lavées à l'eau, séchées sur sulfate de sodium et distillées. Le résidu pesant 332 g constitue les bases A.

Nous avons donc obtenu un rendement en alcaloïdes totaux de 440 g par 30 kg de feuilles, soit 1,47 %.

3^o Traitement des bases A

— Séparation en oxalates solubles et insolubles.

Les bases A (332 g) sont dissoutes dans 1 litre de chlorure de méthylène. A la solution tiède on ajoute en agitant une solution de 110 g d'acide oxalique dans 330 ml de méthanol. On laisse une nuit à la glacière.

Les oxalates cristallisent, on les sépare sur schott, les lave au chlorure de méthylène puis abondamment à l'acétone. On obtient ainsi des oxalates cristallisés de couleur claire, 95 g.

— Traitement des oxalates insolubles.

Les oxalates sont mis en suspension dans le méthanol chaud et alcalinisés par de l'ammoniaque jusqu'à pH 10. Le précipité d'oxalate d'ammonium est séparé et lavé au méthanol jusqu'à disparition complète des alcaloïdes. La solution est acidifiée par ClH jusqu'à pH 2. Ensuite on l'extrait par le chlorure de méthylène, après alcalinisation à l'ammoniaque et addition d'un volume d'eau.

Après lavage à l'eau et séchage sur sulfate de sodium, on distille le chlorure de méthylène sans aller jusqu'à siccité. Lorsque l'on est aux 4/5, on laisse à la glacière, la triacanthine cristallise alors. On la sépare, la lave au chlorure de méthylène, on en obtient 4 g.

La solution de chlorure de méthylène est alors tirée à sec ; 49 g de bases correspondant aux oxalates insolubles qui vont être repris par le benzène et filtrés sur 7 fois leur poids d'alumine.

FILTRATION SUR ALUMINE

fraction	éluant	V	Poids	Remarques
1	benzène	1,5 l	38,2 g	crist. } jaune pâle } holamine cristalline } dans le benzène et acétate d'éthyle } huileux jaune foncé } »
2	»	1,5 l	0,9 g	
3	éther	1,5 l	1,1 g	
4	méthanol	1,5 l	8,3 g	
5	»	1,5 l	0,4 g	

— Traitement des oxalates solubles.

On les traite de la même façon que les oxalates insolubles, c'est-à-dire par le méthanol ammoniacal et le méthanol chlorhydrique. Après acidification, par repos, il y a précipitation de cristaux ne donnant pas de réaction de Mayer qui sont vraisemblablement de l'acide ursolique.

Les bases obtenues n'ont pas été traitées plus avant.

4^o Traitement des bases B

a) Filtration sur alumine.

Les bases B (108 g) sont dissoutes dans le benzène et passées sur 7 fois leur poids d'alumine (750 g).

fraction	éluant	V	poids	remarques
1	benzène.....	5 l	81,55	jaune foncé
2	—	5 l	1,65	jaune pâle
3	—	5 l	0,1	
4	éther	5 l	5,2	jaune
5	éthanol	5 l	15,5	jaune transformé en
6	—	5 l	1,6	Cl (holamine)
7	méthanol	5 l	1,8	

Les fractions éluées au benzène vont être chromatographiées.

b) Chromatographie.

Les bases éluées au benzène vont être passées sur 30 fois leur poids d'alumine Merck.

fraction	éluant	V	poids	remarques
1- 5	benzène.....	12 l	12,45	
6-12	éther	18 l	20,75	holaphylline
13-18	éther	18 l	29,05	holaphylline + holamine. Sous forme de chlorhydrate on sépare l'holaphylline.
	éthanol 15 %.....			
19-23	éther	12 l	16,6	holamine
	éthanol 50 %.....			
24-26	éthanol	71 l	1,5	
27	méthanol	31 l	3	
28	méthanol acétique.		1	

Les fractions 6-12 sont recristallisées dans le méthanol et donnent 12 g d'holaphylline cristallisée.

Les fractions 13-18 ne cristallisent pas sous forme de bases. Si l'on fait les chlorhydrates on obtient un premier jet de 13 g de chlorhydrate d'holaphylline cristallisé en aiguilles. Si l'on fait un deuxième jet, on obtient un mélange de chlorhydrate cristallisé en aiguilles et de chlorhydrate cristallisé en oursins. Ce deuxième correspond au chlorhydrate d'holamine.

Les fractions 19-23 cristallisent dans l'acétate d'éthyle et donnent 7,5 g d'holamine.

Cet échantillon ne contient pas d'holaphyllamine ou très peu.

Holarrhena du Togo, récolte de septembre.

29 kg de feuilles sont traités et donnent :

235 g de bases B et 355 g de bases A, soit 590 g d'alcaloïdes totaux, ce qui correspond à un rendement de 2,1 %.

Bases A :

Donnent 140 g d'oxalates insolubles qui donnent 104 g de bases et 8 g de togholamine.

Les bases sont filtrées sur alumine (70 g sur 500 g d'alumine). Dans cet échantillon, les bases sont très colorées et la fraction benzénique de la filtration ne donne pas un produit qui cristallise immédiatement et l'on est obligé de passer par l'intermédiaire des oxalates.

Les oxalates décomposés donnent une base qui cristallise dans l'acétate d'éthyle : holamine.

Bases B :

Filtration sur alumine (235 g sur 1 550 g d'alumine).

1-3 benzène	165,3 g
4 éther	7,6 g
5 éthanol	50,4 g
6 méthanol	6,5 g.

La fraction benzénique va être chromatographiée.

La fraction éthanol est dissoute dans le chlorure de méthylène, on y ajoute de l'acide oxalique en solution dans le méthanol, les oxalates cristallisés sont séparés, lavés au chlorure de méthylène puis à l'acétone et séchés.

On repasse ensuite à l'état de bases, 34 g que l'on reprend dans le méthanol et que l'on transforme en chlorhydrates qui cristallisent dans le méthanol : *chlorhydrate d'holaphyllamine*.

Chromatographie :

1 benzène	0	
2-11 CH ₂ Cl ₂	68,25	24 g d'holaphylline cristallisée
12-15 éther	4,65	
16-22 éther-éthanol 5 %	63,95	49 g d'holamine cristallisée
23-25 éthanol	23,3	
26 méthanol	2	

Holarrhena mission Bouquet-Debray (23 juin 58).

C'est le premier *Holarrhena* que l'on a travaillé, la précipitation des oxalates a eu lieu avant le traitement à l'éther de pétrole, qui se faisait alors par simple agitation avec les bases préalablement extraites au chlorure de méthylène.

On a obtenu :

Bases A : 33,6 g dont la chromatographie a fourni :

benzène	0,2	
éther	8,8	2,7 g d'holaphylline cristallisée
éther-éthanol 15 %	8,8	
éther-éthanol 50 %	8,8	
méthanol	3	

Bases B : 4 g qui ont donné en majeure partie de l'holaphyllamine.
Bases dites C : togholamine 3,4.

Holarrhena Guinée (mars 58).

4 kg de feuilles donnent : 62,6 g d'alcaloïdes totaux, soit 1,56 % qui sont constitués par :

Bases A : 34,8 g qui ne contiennent pas de togholamine.

Bases B : 27,8 g qui ont été filtrés sur alumine.

benzène.....	20	}	holaphylline
—	1,74		
—	0,94		
éther	1,74	}	holaphyllamine.
éthanol	3,68		

Dans cet échantillon il n'a pas été trouvé d'holamine.

Holarrhena Côte d'Ivoire (25 avril 1959).

3 kg de feuilles ont donné 58 g d'alcaloïdes totaux ce qui fait un rendement de 1,93 %.

Ce lot contient 16,93 g de togholamine, soit un rendement de 0,564 %.

Holarrhena Côte d'Ivoire (8 avril 1959), inflorescences et brindilles :

alcaloïdes totaux.....	11,24
togholamine	3.8 g pour un kg.

Holarrhena Togo récolte probable avril.

500 g de feuilles donnent 9 g d'alcaloïdes totaux, soit un rendement de 1,8 %.

Bases A : 3,55.

togholamine

1,135.

Bases B : 3,97 ne contenant pas d'holamine.

II. — STRUCTURE DE LA TRIACANTHINE

Triacanthine.

— F : 232°, (α)_D : 0 ;

— base blanche, cristallisée en petits cristaux brillants dans le benzène ou le méthanol ;

— très faiblement soluble dans le chloroforme, le chlorure de méthylène ou le benzène ;

— faiblement soluble dans l'éthanol ou le méthanol ;

— solubilité moyenne dans l'acétone ;

— bonne solubilité dans le mélange chlorure de méthylène-méthanol ;

— poids moléculaire déterminé par titrage potentiométrique : 204,22 ;

- pK'a : 5,08 dans le méthylcellosolve,
5,4 dans le diméthylformamide + eau ;
- le spectre ultraviolet (fig. 2) effectué sur une solution dans l'éthanol à une concentration de 0,000765 %, montre un maximum à 273 m μ en milieu neutre et 276 m μ en milieu acide avec un log ϵ de 4,20 ;
- le spectre I. R. (fig. 1) montre des bandes d'absorption correspondant à des groupements N-H à 3 236 cm⁻¹ et à des liaisons C = N à 1 673 cm⁻¹ ;
- le spectre R.M.N. n'a pas été fait sur la base mais sur le chlorhydrate.

Analyse :

calculé pour	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ (203,244)			
calculé %	C 59,09	H 6,44	N 34,46	
trouvé	59,11	6,57	34,43	
N-CH ₃	0			
« H »	1,04			
O-CH ₃	0			

Chlorhydrate de triacanthine.

1 g de triacanthine est dissous dans un mélange à parties égales de méthanol et de chlorure de méthylène. On ajoute un léger excès de ClH et on distille à sec.

Par recristallisation dans le méthanol on obtient un premier jet de 600 mg, qui est recristallisé pour analyse.

F. 230°.

Analyse :

calculé pour	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ Cl : 239,71			
calculé %	C 50,10	H 5,88	N 29,31	Cl 14,76
trouvé	50,15	5,78	28,88	14,68

Picrate de triacanthine.

100 mg de triacanthine sont dissous dans 20 ml d'éthanol. On ajoute goutte à goutte une solution alcoolique d'acide picrique saturée jusqu'à cessation de précipité. Le produit essoré est recristallisé dans l'éthanol.

F. 243° + 10°.

Iodométhylate de triacanthine.

1 g de triacanthine est dissous dans un mélange à parties égales de méthanol et de chlorure de méthylène. On ajoute 6 ml d'iodure de méthyle et l'on porte à reflux pendant 10 heures. On évapore le solvant ; résidu = 1,72 (théorie : 1,73).

Par recristallisation dans le mélange méthanol chlorure de méthylène, on obtient un produit de point de fusion : 216°.

Analyse :

calculé pour.....	$C_{11}H_{14}N_5I$ (345,17)			
calculé %	C 38,24	H 4,66	N 20,29	I 36,73
trouvé	38,24	4,73	20,51	36,79

Hydrolyse chlorhydrique de la triacanthine = chlorhydrate d'adénine.

500 g de triacanthine sont chauffés à 80° au bain-marie pendant huit heures avec 10 ml d'acide chlorhydrique fumant. Après refroidissement, on observe l'apparition de cristaux que l'on essore et que l'on lave au méthanol.

Les 250 mg précédemment obtenus sont recristallisés dans le méthanol, pour analyse, on obtient un produit fondant à 295-300°, dont les spectres I. R. et U. V. sont identiques à ceux du chlorhydrate d'adénine.

Analyse :

calculé pour.....	$C_5H_5N_5HCl$, 1/2 H_2O			
calculé %	C 33,23	H 3,90	N 38,79	Cl 19,64
trouvé	33,02	3,94	38,85	19,50

Sur les eaux mères, on fait le picrate que l'on recristallise dans l'acétone.

Il possède un point de fusion de 290-5° et son spectre infrarouge est identique à celui du picrate d'adénine.

Analyse :

calculé pour.....	$C_{11}H_5O_7N_5$	
calculé %	C 36,27	H 2,21
trouvé	36,35	2,50.

Hydrogénation de la triacanthine = dihydrotriacanthine + adénine.

1 g de triacanthine est agité en atmosphère d'hydrogène en présence de platine réduit. L'absorption est longue et l'agitation est poursuivie pendant seize heures. Au bout de ce temps l'absorption est terminée et la quantité d'hydrogène absorbée est supérieure à la quantité théorique calculée pour une double liaison. Ensuite on sépare le catalyseur par filtration sur terre d'infusoire et on élimine l'acide acétique par distillation sous vide, sans dépasser la température de 40°. On reprend par de l'eau distillée et on extrait par du chlorure de méthylène après alcalinisation à l'ammoniaque. Cette extraction est très longue et est menée jusqu'à ce qu'il ne s'extrait plus rien au chlorure de méthylène. La solution de chlorure de méthylène est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium et distillée. Le résidu, 550 mg, est repris dans l'acétone où la dihydrotriacanthine cristallise. Le produit cristallisé fond à 230° et donne une dépression du point de fusion à 210° lorsqu'il est mélangé à de la triacanthine. Il est recristallisé dans l'acétone pour analyse.

Analyse :

calculé pour.....	$C_{40}H_{15}N_5$		
calculé %.....	C 58,51	H 7,37	N 34,12
trouvé	58,73	7,10.	

La phase aqueuse restant après extraction au chlorure de méthylène est ensuite traitée.

1) Sur une petite quantité, on fait le picrate en ajoutant une solution aqueuse saturée d'acide picrique jusqu'à cessation de précipité. Le précipité est séparé et essoré et recristallisé dans l'acétone. Le produit recristallisé possède un point de fusion de 300° et son spectre infrarouge est identique au spectre infrarouge d'un picrate d'adénine de référence.

2) Le reste de la phase aqueuse est tiré à sec, le résidu est repris par du méthanol et filtré. Ensuite on acidifie par de l'acide chlorhydrique. On obtient immédiatement un précipité minéral, que l'on sépare et qu'on lave au méthanol. Le filtrat est ensuite concentré et laisse cristalliser du chlorhydrate d'adénine, qui est identifié par son point de fusion, son spectre infrarouge et qui est préparé pour analyse.

Analyse :

calculé pour.....	$C_8H_5N_5 \text{ ClH}, 1/2 \text{ H}_2\text{O}$			
calculé %	C 33,23	H 3,90	N 38,78	Cl 19,64
trouvé	32,96	3,94	38,50	19,85

Ozonolyse de la triacanthine.

500 mg de triacanthine sont dissous dans 30 ml d'acide acétique pur, la solution est mise dans un bain glacé et on y fait passer un courant d'oxygène ozonisé pendant une heure. On ajoute ensuite à la solution 300 ml d'eau distillée et l'on fait un entraînement à la vapeur. Le distillat est reçu sur du réactif à la 2-4-dinitro-phényl-hydrazone.

Le précipité brut est séparé, séché, pesé : 550 mg, ce qui correspond à un rendement de 95 %.

Cette hydrazone est recristallisée dans l'éthanol. Le produit cristallisé fond à 127° , ne donne pas de dépression de point de fusion mélangé avec la 2-4-dinitro-phényl-hydrazone de l'acétone, dont le point de fusion est 128° . Leurs spectres infrarouges sont identiques.

Analyse :

calculé pour.....	$C_6H_{10}N_4O_4$: 238,20		
calculé %.....	C 45,38	H 4,23	N 23,52
trouvé	45,73	4,30	23,70.

L'autre partie de l'ozonolyse n'a pu être séparée, sauf sous forme de 2-4-dinitro-phényl-hydrazone, qui n'a pu être recristallisée en raison de son insolubilité dans tous les solvants usuels.

POINTS ISOSBESTIQUES

Détermination des points isosbestiques.

Spectres U. V. de la triacanthine et de ses isomères en solution aqueuse.

Solution mère.

5 mg environ de substance sont pesés dans un ballon jaugé de 50 ml et dissous dans de l'acide chlorhydrique N/10.

a) Solution acide (ClH N/10).

10 ml de la solution mère sont dilués au 10° par ClH N/10.

On obtient une solution contenant environ 10 γ /ml dans ClH N/10.

b) Solution alcaline (NaOH N/100).

10 ml de la solution mère

20 ml de NaOH N/10

q. s. p. 100 ml d'eau distillée.

On obtient une solution contenant environ 10 γ /ml dans NaOH N/100.

Lecture sur spectrophotomètre Unicam.

Blancs constitués par les solutions de ClH N/10 et NaOH N/100.

III. — SYNTHÈSE DE LA TRIACANTHINE ET DE SES ISOMÈRES

Diamide malonique.

Obtenue avec un rendement de 88 % par l'action d'ammoniaque concentrée sur le malonate d'éthyle, d'après FREUND (42).

P. F. 172°.

4,6-Dihydroxypyrimidine.

Cette pyrimidine a été préparée suivant les indications de HULL (67) modifiées par MARCHAL (98) : action du formiate d'éthyle sur la diamide malonique, en présence de 3 équivalents d'éthylate de Na.

Rendement : 72 %.

4,6-Dihydroxy-5-nitropyrimidine.

Préparée par la méthode de BOON (14) modifiée par SEGAL (123) : nitration de la 4,6-dihydroxypyrimidine en milieu acétique et à 85-90°.

Rendement : 92 %.

4,6-dichloro-5-nitropyrimidine.

Préparée par l'action d'oxychlorure de phosphore sur le composé ci-dessus d'après BOON (14).

Rendement : 85 %. P. F. 101-2° après traitement au noir en milieu benzénique.

4,6-diamino-5-nitropyrimidine.

Préparée par l'action d' NH_3 en solution alcoolique sur le 4,5-dichloro-5-nitro-pyrimidine, d'après ROBINS (115).

Rendement 96 %.

4,5,6-triaminopyrimidine.

Préparée par hydrogénation catalytique à faible pression et en présence de Ni de Raney, de la 4,6-diamino-5-nitropyrimidine d'après ROBINS (115).

Rendement : 90 %.

Pour l'opération suivante, il y a lieu d'isoler cette triaminopyrimidine à l'état de sulfate hydraté très peu soluble.

Adénine.

D'après ROBINS (115), par l'action de la formamide sur le sulfate de triaminopyrimidine.

On chauffe à reflux pendant une demie heure 20 g de sulfate de triaminopyrimidine et 20 cc de formamide, puis on évapore à sec sous vide. On recristallise dans environ 300 cc d'acide sulfurique 2N, en présence de norite.

On obtient 15,5 g de sulfate d'adénine ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$, $1/2\text{H}_2\text{SO}_4$, H_2O), soit un rendement d'environ 90 %.

On le redissout dans de l'eau bouillante et neutralise par addition d'ammoniaque. Par refroidissement, l'adénine cristallise lentement.

On obtient 13 g d'adénine hydratée ($3\text{H}_2\text{O}$).

Le chlorhydrate s'obtient par dissolution dans de l'alcool, eau et acidification par HCl conc.

4-amino-5-nitro-6-chloro-pyrimidine.

Préparé d'après BOON (14) ; cf. aussi SEGAL (123) à partir de la 4,6-dichloro-5-nitro-pyrimidine.

Obtenu un rendement de 80 à 82 % en produit de P. F. 156°.

La réduction par le zinc de la 4-amino-5-nitro-6-chloropyrimidine d'après ROBINS (115) est une opération qui donne de mauvais rendements.

Il est préférable de préparer d'abord la 4,6-dichloro-5-amino-pyrimidine par réduction catalytique sous faible pression du dérivé nitré correspondant, d'après ROBINS (116), en présence de Ni de Raney.

Rendement : 81,9 %

P. F. 146° (cristallisé dans l'eau).

4,5-diamino-6-chloro-pyrimidine.

Se prépare à partir de la 4,6-dichloro-5-aminopyrimidine par l'action d' NH_3 en solution alcoolique, à $125-130^\circ$, d'après BENDICK (7).

Rendement : 75 %.

P. F. $248-50^\circ$.

6-chloropurine.

Se forme à partir de la 6-chloro-4,5-diaminopyrimidine par cyclisation en présence d'orthoformiate d'éthyle et d'anhydride acétique, d'après Montgomery (101) et désacétylation par la soude diluée.

Rendement : 80 %.

γ,γ -diméthylallylbromure.

A été obtenu à partir d'isoprène d'après le procédé décrit par STAUDINGER (144) : action d'une solution d'HBr dans l'acide acétique sur de l'isoprène.

Rendement : 70 %.

On peut aussi l'obtenir par l'action d'HBr à 0° sur du 2-méthyl-3-buten-2-ol (produit commercial), d'après NAZAROV (103), ou par l'action du tribromure de phosphore sur le même alcool à -15° , d'après KARRER (84).

P. Eb. $61-63^\circ/67$ mm Hg.

γ,γ -diméthylallylamine.

On chauffe à 100° pendant trois heures une solution de 22 g de bromure de γ,γ -diméthylallyle dans 200 cc d'une solution d' NH_3 dans de l'éthanol (saturé à 0°). On filtre et distille.

P. Eb. $105-108^\circ$. Obtenu : 4 g, soit un rendement de 31,7 % (un essai).

6 γ,γ -diméthylallylaminopurine.

1^{re} méthode à partir d'adénine, selon le procédé général de WHITEHEAD (152).

On chauffe en tube scellé à 170° pendant dix-huit heures 0,9 g de chlorhydrate d'adénine (1/2 aqua), soit 0,005 M avec 4 g de diméthylallylamine.

Après refroidissement, on reprend par de l'alcool froid et filtre pour éliminer l'excès de diméthylallylamine.

Le solide est repris par de l'eau acide (HCl), on décolore au noir et filtre. Au filtrat, on ajoute de l'acétate de soude pour éliminer l'acidité minérale ; on observe une cristallisation (l'adénine, dans ces conditions, ne cristallise que très lentement). On recristallise dans l'eau.

Obtenu : 0,250 g de produit de P. F. $208-9^\circ$.

Rendement : 25 %.

Calculé pour $C_{10}H_{13}N_3$	P. M. 203	% C 59,09	% H 6,44	% N 34,46
Trouvé		59,15	6,54	34,56

Le spectre I. R. montre la disparition de la bande NH_2 de l'adénine.

2° *méthode* à partir de la 6-chloropurine.

On chauffe à reflux pendant deux heures 0,5 g de 6-chloropurine avec 10 cc de butanol normal contenant 1 g de γ,γ -diméthylallylamine. On isole par cristallisation dans l'eau un produit de P. F. 20°, qui possède un spectre I. R. identique à celui du composé obtenu ci-dessus.

9- γ,γ -diméthylallyl-6-aminopurine.

On dissout à chaud 1 g d'adénine dans 40 cc de diméthylformamide. On introduit 0,2 g d'hydruure de sodium et ajoute 1,2 g de bromure de diméthylallyle.

On chauffe pendant quatre heures à reflux, évapore à sec sous vide au bain-marie et reprend le résidu à froid par de l'acide chlorhydrique dilué (50 cc). On observe une cristallisation. On filtre (l'adénine reste en solution).

Les cristaux sont dissous à chaud dans de l'eau et on neutralise par addition d'ammoniaque.

La 9 γ,γ -diméthylallyl-6-aminopurine cristallise.

P. F. 163-4°. Par recristallisation dans l'eau, on obtient 0,150 g de P. F. 164-5°.

Calculé pour $C_{10}H_{13}N_3$	P. M. 203	% C 59,09	% H 6,44	% N 34,46
Trouvé		58,9	6,50	34,08

Remarque : au lieu d'hydruure de Na, on peut utiliser du méthylate de Na.

7- γ,γ -diméthylallyladénine.

— 4,5,6-Triaminopyrimidine.

— 4,6-diamino-5-formamidopyrimidine.

Préparé d'après CAVALIERI (19).

On chauffe la triaminopyrimidine avec de l'acide formique.

Rendement : 95 %.

— Dérivé sodé de la 5-formamido-4-6-diaminopyrimidine.

On met en suspension 0,01 M de 4,6-diamino-formamidopyrimidine dans 50 ml de diméthylformamide.

On ajoute :

0,25 g d'hydruure de sodium.

On agite fortement, le sel de sodium se forme facilement et on obtient une cyclisation totale.

— Action du bromure de diméthylallyle.

On ajoute 0,01 M bromure de γ,γ -diméthylallyle. On chauffe pendant trois heures vers 60-70°, on observe une précipitation.

On refroidit, filtre, lave à l'eau et à l'alcool. Après recristallisa-

tion et décoloration, on obtient un composé de P. F. 285°, qui est constitué par la N- (4,6-diamino-pyrimidine-5 yl) N- (γ,γ-diméthylallylformamide).

Analyse..... $C_{10}H_{15}N_5O$ 1/2 H_2O
calculé..... N % 30,45
trouvé 30,44.

Le spectre I. R. de ce composé est caractéristique.

— Cyclisation = 7-γ,γ-diméthylallyladénine.

Ce produit ne se cyclise que très difficilement. On y parvient en chauffant à 220° pendant vingt minutes dans de la diéthanolamine.

On parvient à isoler un composé.

F : 192-194°.

Analyse..... $C_{10}H_{15}N_5$ 1/2 H_2O
calculé..... N 33
trouvé N 32,70

pK'a (diméthylformamide 50 % d'eau) 3,3.

Spectre U. V.

$$\begin{array}{rcl} \text{max. } H^+ & 274 & \epsilon \text{ 12 600} \\ & OH^- 273 & \epsilon \text{ 10 300} \\ H^+ \frac{\epsilon \text{ 280}}{\epsilon \text{ 260}} = 1 & & OH^- \frac{\epsilon \text{ 280}}{\epsilon \text{ 260}} = 0,77 \end{array}$$

Les dérivés 7 méthyl

7 benzyl

7 cyclopentyl ont été préparés suivant la même technique.

3-γ,γ-diméthylallyl-adénine.

On dissout à chaud

0,01 M de 4,6-diamino-5-formamido-pyrimidine dans 125 ml de diméthylformamide.

On ajoute

0,01 M de bromure de γ,γ-diméthylallyle.

Après quelques heures à 60-70°, on observe une précipitation abondante de bromhydrate de la 3-γ,γ-diméthylallyl-4-imino-5-formamido-6-amino-pyrimidine (80 % de rendement).

Par traitement de ce bromhydrate par de la potasse en solution à 5 % vers 60°, on observe une solubilisation suivie d'une recristallisation.

La purine obtenue possède un :

F : 230°.

Spectre U. V.

$$\begin{array}{rcl} \text{max. } H^+ & 274 \text{ m}\mu & \epsilon : 17,500 \\ & OH^- 273 \text{ m}\mu & \epsilon : 13,300 \\ \epsilon \text{ 280 : } H^+ & : 1,32 & \\ \hline \epsilon \text{ 260 } OH^- & : 1,47 & \end{array}$$

pK'a : 5,45.

Spectre I. R. identique à celui de la triacanthine.

Si la solution de bromhydrate de la 3- γ,γ -diméthylallyl-4-imino-5-formamido-6-aminopyrimidine est passée sur résine échangeuse d'ion, on élue une solution très alcaline. Un simple chauffage de cette solution provoque une baisse de pH et une cristallisation de triacanthine.

Ce fait prouve la formation d'un ammonium quaternaire intermédiaire.

Les 3 méthyl
3 benzy
3 furfuryl adénine ont été également préparées par ce procédé.

IV. — STRUCTURE DE L'HOLAPHYLLINE

Holaphylline. 3 β -méthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

3 β -méthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

cristallise dans le méthanol

sublime à 110° sous vide poussé

F : 128°

(α)_D + 23,7 (CHCl₃ c = 1)

Equivalent moléculaire 330

pKa : 9,10 (méthylcellosolve)

pas de spectre U. V.

Spectre infrarouge (fig. 8)

bande C = O à 1 693 cm⁻¹

analyse	C ₂₂ H ₃₅ ON	329,51	
calculé %	C 80,19	H 10,71	N 4,25
trouvé	80,03	10,49	4,34

Dosage des N-CH₃

pour 1 N-CH ₃	calculé 4,56 %
	trouvé 4,23

Chlorhydrate d'holaphylline.

Obtenu par acidification d'une solution méthanolique d'holaphylline par l'acide chlorhydrique

cristallise dans le méthanol

Spectre I. R. (fig. 8 bis) : bandes NH₂⁺ à 2 446
NH⁺ 2 719

F : 320°

Holaphyllinol. 3 β -méthylamino-20 β -hydroxypregna-5-ène.

500 mg d'holaphyllinol sont dissous dans 25 ml de méthanol.

500 mg de borohydrure de potassium sont ajoutés peu à peu en agitant constamment.

L'agitation est poursuivie 4 heures.

La réaction achevée, la solution est diluée dans 100 ml d'eau et extraite par le chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, séché sur SO_4Na_2 anhydre, distillé, laisse un résidu de 500 mg cristallisé dans le méthanol.

F : 226°

$(\alpha)_D - 73,5^\circ$ (CHCl_3 c = 1,5)

analyse	$\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{ON}$	331,52		
calculé %	C 79,70	H 11,25	N 4,23	
trouvé	79,9	11,2	4,7	

Dihydroholaphylline. 3 β -méthylamino-20-oxo-5 α -Pregnane.

300 mg d'holaphylline sont dissous dans

20 ml d'acide acétique

300 mg de charbon palladié à 15 % sont ajoutés.

Agitation en atmosphère d'hydrogène à la pression ordinaire.

L'hydrogénation est pratiquement terminée en 4 heures.

Le catalyseur est séparé par filtration et l'acide acétique est distillé à sec.

Le résidu, repris par l'eau, est extrait par le chlorure de méthylène après alcalinisation par l'ammoniaque.

Le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, séché sur SO_4Na_2 anhydre, distillé, laisse un résidu de 300 mg.

Cristallisation dans le méthanol.

F 123°-124°

$(\alpha)_D + 64^\circ$ (CHCl_3 c = 1,31)

analyse	$\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{ON}$	331,52		
calculé %	C 79,70	H 11,25	N 4,23	
trouvé	79,9	10,9	4,3	

Acétylholaphylline. 3 β -N-acétyl-N-méthyl-20-oxo-pregna-5-ène.

100 mg d'holaphylline sont dissous dans

3 ml d'anhydride acétique et chauffés 3 heures à 150° dans un bain de silicone.

Après refroidissement, dilution par 200 ml d'eau, extraction au chlorure de méthylène après alcalinisation à l'ammoniaque.

Le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium anhydre, laisse un résidu de 107 mg.

Cristallisation dans le méthanol

Sublimation à 180° sous vide 0,01 mm de Hg

F : 205°

$(\alpha)_D + 16,7^\circ$ (CHCl_3 = 1,2)

analyse	$\text{C}_{24}\text{H}_{37}\text{O}_2\text{N}$	371,54		
calculé %	C 77,58	H 10,04		
trouvé	77,49	9,78		

Méthylholaphylline. 3 β -diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

250 mg d'holaphylline,
3,5 ml d'acide formique,
3,5 ml de solution d'aldéhyde formique à 33 %,

sont chauffés 4 heures au bain-marie bouillant, réfrigérant à air.

Après refroidissement, alcalinisation par NH₄OH en présence de glace.

Extraction par le chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, séché sur SO₂Na₂ anhydre, distillé, laisse un résidu de 270 mg.

— Chromatographie sur 8 g d'alumine Merck.

100 mg élués au benzène.

Cristallisation dans l'acétone.

F : 121°

(α)_D + 30,4° (CHCl₃ c = 0,86)

analyse	C ₂₅ H ₃₇ ON	343,53		
calculé %	C 80,41	H 10,86	4,08	
trouvé	80,53	10,79	3,89	

Dégradation d'Hoffman de l'holaphylline. → 20-oxo-pregn-3,5-diène.

1. — N-Méthylholaphylline.

2. — Iodométhylate de méthylholaphylline.

1,080 g de méthylholaphylline est dissous dans

50 ml d'éther anhydre

0,5 ml d'iodure de méthyle est dissous dans

10 ml d'éther anhydre.

Les deux solutions sont mélangées, agitées. Après 24 heures de contact à la température ambiante, le précipité formé est essoré, lavé à l'éther et redissous dans 120 ml d'éthanol chaud. Par refroidissement, 400 mg d'iodure d'holaphyllinium cristallisent. Les eaux mères tirées à sec laissent 750 mg de résidu.

analyse	C ₂₄ H ₄₀ ONI			
calculé %	C 59,38	H % 8,30	N 2,88	I 26,10
trouvé	59,43	8,44	2,70	26,76

3. — Passage à la base quaternaire.

250 mg d'iodure d'holaphyllinium sont dissous dans

20 ml de méthanol et passés sur résine I. R. 410 en phase OH et l'on obtient 177 mg de base quaternaire.

4. — Pyrogénéation de la base quaternaire.

Les 177 mg de base quaternaire sont mis dans un tube à sublimation.

Le produit est chauffé vers 150° sous un vide de 0,01 mm de Hg.

Le produit de pyrogénéation sublime.

Il est recristallisé dans le méthanol.

F : 143°

(α)_D — 61,3° (CHCl₃ c = 1,16)

Spectre U. V. maximum à 233-236 m μ

log ϵ : 4,27

analyse	C ₂₁ H ₃₀ O	
calculé %	C 84,51	H 10,13
trouvé	84,78	10,12

Désamination de l'holaphylline = progesterone.

Par la méthode de Ruschig :

500 mg d'holaphylline sont dissous dans

30 ml de chlorure de méthylène

203 mg de N chloro-succinimide sont ajoutés petit à petit, en agitant.

L'agitation est poursuivie une heure.

La solution de chlorure de méthylène, lavée 3 fois à l'eau, séchée sur SO₂Na₂ anhydre et distillée sous vide, sans dépasser la température de 40°, laisse un résidu de 550 mg de chloramine.

— De l'éthylate de sodium est préparé par addition dans de la verrerie très sèche de :

0,400 g de sodium par petites fractions dans

25 ml d'éthanol absolu.

La solution d'éthylate est ensuite versée sur les 550 mg de chloramine et la solution est portée à l'ébullition à reflux pendant 40 minutes.

Après refroidissement, la solution est versée dans 400 ml de solution d'acide sulfurique à 2 %.

— Après repos une nuit, extraction au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène, lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 200 mg.

Les 200 mg dissous dans l'hexane sont chromatographiés sur 30 g d'alumine Merck. L'élution au benzène donne 150 mg d'un produit cristallisant dans l'hexane.

F. 130°

(α)_D + 180° (dioxane c = 1,2)

Spectre I. R. identique à celui de la progesterone

Spectre U. V. maximum à 241 m μ log ϵ 4,23

analyse	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	
calculé %	C 80,21	H 9,62
	80,09	9,56

Toutes les constantes sont identiques à celles de la progesterone.

Réduction de Wolf Kischner de l'holaphylline.

— *Méthyl-dihydrodesoxoholaphylline.* 3 β -diméthylamino-pregna-5-ène.

850 mg de sodium sont dissous petit à petit dans

15 ml de glycol.

On ajoute ensuite :

500 mg d'holaphylline et

1 ml d'hydrate d'hydrazine.

On chauffe 6 heures à 200° au bain de silicone, avec réfrigérant à reflux.

Après refroidissement, dilution par 10 volumes d'eau, extraction par l'éther.

L'éther, lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 340 mg.

Cristallisation en aiguilles dans l'acétone.

Sublimation à 120° sous 0,01 mm de Hg.

F : 136°

(α)_D — 57,5° (CHCl₃ c = 1,12)

analyse	C ₂₂ H ₃₃ N	315,52		
calculé %	C 83,74	H 11,82	N 4,44	
trouvé	83,77	11,57	4,51	

— *Méthyl-dihydrodesoxoholaphylline*. 3 β -diméthylamino-pregna-5-ène.

Obtenu à partir du produit précédent par la méthode d'Eschweiler-Clarke :

150 mg de dihydrodesoxoholaphylline,

2,5 ml HCHO 33 %,

2,5 ml HCOOH.

Cristallisation dans l'acétone.

Sublimation à 105° sous 0,01 mm de Hg.

F : 119°

(α)_D — 51° (CHCl₃ c = 1,08) *

analyse	C ₂₂ H ₃₃ N	329,55		
Calculé %	C 83,82	H 11,93	N 4,25	
trouvé	83,84	11,82	4,10	

* *Remarque* : HAWORTH donne un (α)_D de — 38°.

Préparation du méthyl dihydroholaphyllinol.

Trois voies ont été utilisées (tableau n° 13).

— *Méthylholaphyllinol* : 3 β -diméthylamino-20 β -hydroxy-pregna-5-ène.

soit par réduction au borohydrure de potassium de la méthylholaphylline,

soit par méthylation au formol acide formique de l'holaphyllinol. Dans ce cas, la méthylation doit être suivie d'une hydrolyse alcaline par la potasse méthanolique 30 minutes à ébullition pour saponifier l'ester formique.

Cristallisation dans le méthanol.

Sublimation à 170° sous 0,01 mm de Hg.

F : 197°

(α)_D — 64° (CHCl₃ c = 0,94)

analyse	$C_{23}H_{30}ON$	345,55		
calculé %	C 79,94	H 11,38	N 4,05	
	80,04	11,06	3,95	

— *Méthyl dihydroholaphylline* : 3 β -diméthylamino-20-oxo-5 α -pregnane.

Préparé par :

— réduction catalytique de la méthyl holaphylline en présence de charbon palladié à 15 % ;

— méthylation de la dihydroholaphylline par le mélange formol-acide formique.

Cristallisation dans le méthanol.

F : 65°

(α)_D + 88° (CHCl₃ c = 0,93)

analyse	$C_{23}H_{30}ON$	345,55		
calculé %	C 79,94	H 11,38	N 4,05	
trouvé	79,72	11,00	4,12	

— *Dihydroholaphyllinol* : 3 β -méthylamino-20 β -hydroxy-5 α -pregnane.

Préparé par :

— réduction catalytique de l'holaphyllinol,

— réduction au borohydrure de potassium de la dihydroholaphylline.

Cristallisation dans le méthanol.

Sublimation à 180° sous 0,01 mm de Hg.

F : 203°

(α)_D = 0 (CHCl₃ c = 1,5)

analyse	$C_{22}H_{30}ON$	333,54		
calculé %	C 79,22	H 11,79	N 4,20	
trouvé	79,5	11,8	4,4	

Méthyldihydroholaphyllinol : 3 β -diméthyl-20 β -hydroxy-5 α -pregnane.

Préparé par hydrogénation catalytique du méthylholaphyllinol en solution acétique et en présence de charbon palladié à 15 %.

Il a aussi été préparé par méthylation du dihydroholaphyllinol par le formol-acide formique au bain-marie bouillant 4 heures. Mais par cette technique il est nécessaire de faire une saponification de l'ester formique formé au cours de la réaction sur la fonction alcool en 20.

Cristallisation dans le méthanol.

Sublimation à 160° sous 0,01 mm de Hg.

F : 182°-183°

(α)_D + 5,5° (CHCl₃ c = 0,97)

analyse	$C_{23}H_{40}ON$	347,57		
calculé %	C 79,47	H 11,89	N 4,03	
trouvé	79,2	11,5	4,1	

Les constantes physiques $F : (\alpha)_D$ et spectre I. R. sont identiques à celles du 3 β -diméthylamino-20 β -hydroxy-5 α -pregnane préparé à partir de la funtumine.

Synthèse du 3 β -diméthylamino-20 β -hydroxy-5 α -pregnane à partir de la funtumine.

1. — La funtumine 3 α -amino-20-oxo-5 α -pregnane cristallise dans l'acétate d'éthyle.

$F : 126^\circ$

$(\alpha)_D + 95^\circ$ (CHCl_3 $c = 1$)

2. — 3 α -amino-20 β -hydroxy-5 α -pregnane (Réduction par B.H.K.).

10 g de funtumine sont dissous dans

500 ml de méthanol

10 g de B.H.K sont ajoutés par petites fractions en agitant. L'agitation est poursuivie pendant cinq heures.

La solution méthanolique est additionnée de 2 litres d'eau et extraite au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène, lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 10 g.

Cristallisation dans l'acétate d'éthyle.

$F : 170^\circ\text{--}172^\circ$

$(\alpha)_D - 6^\circ$

analyse	$\text{C}_{27}\text{H}_{48}\text{ON}$	319,51		
calculé %	C 78,94	H 11,67	N 4,38	
trouvé	78,8	11,5	4,4	

3. — 3-oxo-20 β -hydroxy-5 α -pregnane.

Desamination oxydative de Ruschig.

10 g de 3 α -amino-20 β -hydroxy-5 α -pregnane en solution dans

600 ml de chlorure de méthylène,

4,600 g de N chloro-succinimide sont ajoutés par petite fraction en agitant.

L'agitation est poursuivie 1 heure.

Le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, séché sur SO_3Na_2 anhydre, distillé sans dépasser la température de 40° laisse un résidu de 10,9 g.

Les 10,9 g sont dissous dans

100 ml d'éthanol absolu et versés dans une solution d'éthylate de sodium obtenue par addition de

8 g de sodium dans

250 ml d'éthanol absolu.

Le tout est porté à l'ébullition à reflux pendant une heure. Après refroidissement, la solution est versée dans 8 l d'eau sulfurique à 1 %.

Le dérivé 3-oxo précipite.

Après une nuit de repos, le dérivé 3-oxo est extrait au chlorure de méthylène.

La solution organique, lavée à l'eau, séchée sur SO_4Na_2 anhydre et distillée laisse un résidu de 8,1 g.

Cristallisation dans l'éthanol.

F : 187°

$(\alpha)_D + 20^\circ$ (CHCl_3 c = 1,2)

analyse		$\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{O}_2$		
calculé %		C 79,19	H 10,76	
trouvé		79,2	10,5	

4. — Oxime du 3-oxo-20 β -hydroxy-5 α -pregnane.

— Préparation de l'acétate d'hydroxylamine :

5 g de chlorhydrate d'hydroxylamine,
17 g d'acétate de sodium sec,
350 ml de méthanol sont portés à l'ébullition et y sont maintenus une minute.

On filtre après refroidissement.

— Préparation de l'oxime :

5,7 g de la cétone précédente sont dissous dans 100 ml de méthanol. On y ajoute la solution d'acétate d'hydroxylamine préparée ci-dessus. Le tout est porté à l'ébullition pendant deux heures avec réfrigérant à reflux.

La solution méthanolique est refroidie, diluée avec 1 l. d'eau et extraite au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 6,170 g.

Cristallisation dans l'éthanol.

F : 217°.

5. — 3 β -amino-20 β -hydroxy-5 α -pregnane.

1 g d'oxime ci-dessus est dissous dans
100 ml d'éthanol absolu.

A la solution portée à l'ébullition à reflux, on ajoute par petites fractions : 8 g de sodium.

L'ébullition est maintenue une heure après la fin de l'addition du sodium.

Après refroidissement et dilution par 500 ml d'eau, on extrait par du chlorure de méthylène. Le chlorure de méthylène lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium anhydre et distillé, laisse un résidu de 920 mg qui ne cristallise pas dans les solvants usuels.

Purification sous forme de chlorhydrate.

Le chlorhydrate cristallise dans le méthanol.

$(\alpha)_D$: O (MeOH c = 0,90)

analyse		$\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{ON}$, ClH	355,97		
calculé %		C 70,95	H 10,57	N 3,96	Cl 9,92
trouvé		70,85	10,76	3,93	9,96

6. — *3β-diméthylamino-20β-hydroxy-5α-pregnane*.

Méthylation selon Eschweiler-Clarke.

300 mg de la base précédente sont chauffés 4 heures au bain-marie bouillant avec

5 ml d'acide formique,

5 ml de solution de formol à 33 %.

Après refroidissement et alcalinisation à l'ammoniaque en présence de glace, on extrait au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène, lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 338 mg dont le spectre I. R. possède une bande ester.

Saponification par ébullition une heure à reflux avec une solution de 1 pastille de potasse dans 5 ml de méthanol.

Après addition d'eau, l'extraction donne un résidu de 320 mg.

Cristallisation dans le méthanol.

Sublimation à 170°, pression de 0,01 mm de Hg.

F : 182°-183°

(α)_D + 5,5° (CHCl₃ c = 1,12)

analyse	C ₂₈ H ₄₈ ON	347,57		
calculé %	C 79,47	H 11,89	N 4,03	
trouvé	79,62	11,70	3,92	

Produit identique par son F (α)_D et spectre I. R. au méthyl-dihydroholaphyllinol.

V. — STRUCTURE DE L'HOLAPHYLLAMINE

Chlorhydrate d'Holaphyllamine.

Chlorhydrate de 3β-amino-20-oxo-pregna-5-ène, cristallise dans le méthanol.

F > 320°

(α)_D + 20° (Me OH c = 1,2)

Spectre I. R. (fig. 18) : bande 1 = O 1 690 cm⁻¹

bande NH₃⁺ à

Analyse	C ₂₁ H ₃₃ ON, HCl	351,94		
calculé %	C 71,66	H 9,73	N 3,98	Cl 10,07
trouvé	71,26	9,64	4,23	9,99

Diméthylholaphyllamine. 3β-diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

500 mg de chlorhydrate, donnent après décomposition

420 mg de base.

Les 420 mg de base sont portés quatre heures au bain-marie bouillant, avec

6 ml de solution de formol à 33 %

6 ml d'acide formique

neutralisation par CO₂Na₂

extraction par CH₂Cl₂.

Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 475 mg.

Chromatographie sur 15 g d'alumine.

L'élution par le benzène donne 320 mg de produit cristallisant dans le méthanol.

F : 121°.

(α)_D + 30° (CHCl₃ c = 1,12)

Analyse	C ₂₃ H ₃₇ ON	343,53		
calculé %	C 80,41	H 10,86	N 4,08	
trouvé	80,44	11,01	4,29	

identique par son F. (α)_D Spectre I. R. à la méthylholaphylline.

VI. — STRUCTURE DE L'HOLAMINE

L'holamine. 3 α -amino-20-oxo-pregna-5-ène

cristallise dans le benzène et l'acétate d'éthyle.

F : 135°

pas de spectre U. V.

Spectre I. R. : bande C = O à 1 690 cm⁻¹ (fig. 19).

(α)_D + 22°6 (CHCl₃ c = 0,88)

Analyse	C ₂₇ H ₃₉ ON			
calculé %	C 79,97	H 10,54	N 4,47	
trouvé	79,84	10,54	4,44.	

Chlorhydrate d'holamine.

Obtenu par acidification par ClH de la solution méthanolique d'holamine.

F : 280°.

Analyse	C ₂₇ H ₃₉ ON, ClH			
calculé %	C 71,66	H 9,73	N 3,98	Cl 10,07
trouvé	71,40	9,72	3,75	9,82

Hydrazone de l'holamine.

2,6 g d'holamine en solution dans

100 ml de méthanol

10 ml d'hydrate d'hydrazine.

Ebullition à reflux au bain-marie trois heures. Par refroidissement, apparition de cristaux qui sont essorés 1,350.

Par addition d'eau, le reste de l'hydrazone est précipité 1,400 g. Cristallisation dans le méthanol.

Deux formes cristallines :

en aiguilles F 182°

en paillettes F 187°

(α)_D — 50,5° (CHCl₃ c = 0,9).

Oxime de l'holamine.

— Préparation de l'acétate d'hydroxylamine :

350 mg de chlorhydrate d'hydroxylamine
1 200 mg d'acétate de sodium sec
25 ml de méthanol.

Le tout est porté à l'ébullition une minute, refroidi et filtré.

— Préparation de l'oxime :

390 mg d'holamine dissous dans
5 ml de méthanol
25 ml de solution d'acétate d'hydroxylamine précédemment
obtenue deux heures à l'ébullition.

La solution refroidie est diluée à l'eau, alcalinisée franchement à l'ammoniaque, extraite au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène, lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 450 mg.

Cristallisation dans le méthanol.

F : 239°.

(α)_D — 45° (MeOH — CHCl₃ à c = 1,22)

Analyse	C ₂₁ H ₃₄ ON ₂	330,50		
calculé %	C 76,31	H 10,37	N 8,48	
trouvé	76,07	10,34	8,70.	

Holaminol. 3 α -amino-20 β -hydroxy-pregna-5-ène.

1 g d'holamine est dissous dans
50 ml de méthanol

1 g de BHK est ajouté par petites fractions avec agitation constante.

L'agitation est poursuivie cinq heures.

Dilution à l'eau.

Extraction au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 990 mg.

Cristallisation dans l'acétate d'éthyle.

Sublimation très rapide à 200° sous vide poussé.

F : 203°.

(α)_D — 78°6 (CHCl₃ c = 1,05).

Analyse	C ₂₁ H ₃₀ ON	317		
calculé %	C 79,44	H 11,11	N 4,41	
trouvé	79,49	11,07	4,71.	

Acétylholamine. 3 α -acétamido-20-oxo-pregna-5-ène.

2 g d'holamine sont laissés en contact une nuit avec

50 ml d'un mélange à parties égales d'acide acétique et d'anhydride acétique.

Après évaporation à sec, reprise par l'eau, alcalinisation par NaOH, extraction au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 2,100 g.

Cristallisation dans le méthanol.

Sublimation très facile à 200° sous vide poussé.

F : 215°.

(α)_D — 6,5° (CHCl₃ c 1)

Analyse.....	C ₂₃ H ₃₅ O ₂ N		
calculé %.....	C 77,26	H 9,87	N 3,92
trouvé	76,99	9,75	4,15

Paranitrobenzylidène de l'holamine.

500 mg d'holamine

500 mg de paranitrobenzaldéhyde

5 ml d'éthanol.

Un quart d'heure à reflux, repos, cristallisation.

Cristallisation dans l'éthanol.

F : 136°.

Analyse.....	C ₂₈ H ₃₆ O ₃ N ₂		
calculé %.....	C 74,97	H 8,09	N 6,25
trouvé	74,89	8,18	6,40.

Diméthyl holamine. 3 α -diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

250 mg d'holamine

3,5 ml de HCOOH

3,5 ml HCHO à 33 %.

Bain-marie bouillant quatre heures, réfrigérant à air.

Après refroidissement, alcalinisation par KOH en présence de glace, extraction au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 280 mg

Chromatographie sur 8 g d'alumine.

La diméthylholamine est éluée au benzène.

Cristallisation dans l'acétone.

F : 135°.

(α)_D + 17,5° (CHCl₃ c = 1,14)

Analyse.....	C ₂₅ H ₃₇ ON	343,53	
calculé %.....	C 80,41	H 10,86	N 4,08
trouvé	80,32	10,76	4,19.

Dihydroholamine. 3 α -amino-20-oxo-5 α -pregnane.

500 mg d'holamine

500 mg de charbon palladié à 15 %

30 ml d'acide acétique.

Agitation quarante-huit heures en atmosphère d'hydrogène.

Élimination du catalyseur par filtration sur coton.

L'acide acétique est distillé sous vide.

La solution aqueuse du résidu est alcalinisée et extraite au chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 480 mg.

Cristallisation dans l'acétate d'éthyle.

F : 126°.

(α)_D + 97°.

Points de fusion mélangés :

Avec l'holamine :

Holamine	Mélange	F 126°
135°	110°	126°

Avec la funtumine :

Funtumine	Mélange	F 126°
128°	126°	126°

Spectre I. R. identique à celui de la funtumine (fig. 27).

Analyse.....	C ₂₁ H ₃₅ ON		
calculé %.....	C 79,44	H 11,11	N 4,41
trouvé	79,24	11,02	4,71.

Dégradation d'Hoffman de l'holamine.

→ 20-oxo-pregna-3,5-diène.

1. — Diméthylholamine.

2. — Iodométhylate de diméthylholamine.

200 mg de diméthylholamine,

15 ml de méthanol,

1 ml d'iodure de méthyle,

reflux vingt minutes.

On laisse refroidir, ajoute de l'éther et sépare l'iodométhylate insoluble : 207 mg.

3. — Passage à la base quaternaire.

200 mg d'iodométhylate de diméthylholamine en solution dans

10 ml de méthanol sont passés sur une colonne de résine I. R. 410 en phase OH⁻, l'éluat tiré à sec donne 118 mg de base quaternaire.

4. — Pyrolyse.

La base quaternaire est introduite dans un tube à sublimation.

On chauffe à 150° sous un vide de 0,01 mm de Hg.

Le produit de pyrogénéation sublime.

Cristallisation dans le méthanol.

F : 144°.

$(\alpha)_D$ — 61,3° (CHCl_3 c = 1,16).

Spectre U. V. maximum à 235 m μ log ϵ = 4,27.

Spectre I. R. identique à celui du produit de dégradation d'Hoffman de l'holaphylline.

Analyse.....	$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{O}$	
calculé %.....	C 84,51	H 10,13
trouvé	84,58	10,23.

Désamination de Ruschig de l'holamine.

→ progestérone : 3-20-dioxo-pregna-5-ène.

2 g d'holamine sont dissous dans
120 ml de chlorure de méthylène,
0,900 g de N chlorosuccinimide sont ajoutés petit à petit en agitant.

L'agitation est poursuivie une heure.

Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé sans dépasser une température de 40° laisse un résidu de 2,200 g de chloramine.

La chloramine est ensuite traitée par une solution d'éthanolate de sodium obtenue par addition de :

1,20 g de sodium dans
50 ml d'éthanol absolu.

Après ébullition une heure à reflux et refroidissement, on jette sur 1,6 l de solution d'eau sulfurique à 2 %.

Après une nuit de repos, on extrait à l'éther.

L'éther lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 820 mg.

De la fraction aqueuse après alcalinisation, sont extraits 1,200 g donnant une réaction de Mayer positive.

Les 820 mg de produit désaminé sont dissous dans l'hexane et chromatographiés sur 24 g d'alumine.

500 mg sont élués au benzène.

Cristallisation dans l'exane.

F : 129°- 131°.

$(\alpha)_D$ = + 180° (dioxane c = 1,2).

Spectre U. V. : maximum à 241-242 m μ log ϵ 4,23.

Spectre I. R. : identique à celui de la progestérone.

Analyse.....	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	
calculé %.....	80,2	H 9,62
trouvé	80,09	9,56.

Toutes les constantes physiques permettent d'identifier ce produit à la progestérone.

Réduction de Wolff-Kishner modifiée de l'holamine.

Dihydrodesoxoholamine. 3 α -amino-pregna-5-ène.

1. — Hydrazone de l'holamine.

2. — Réduction de l'hydrazone.

1,500 g d'hydrazone et

5 ml d'hydrate d'hydrazine

sont ajoutés à une solution de glycolate de sodium obtenue par addition de

3 g de sodium dans

70 ml de diéthylène-glycol.

Le tout est maintenu à l'ébullition à reflux pendant 24 heures.

Après refroidissement, dilution par 450 ml d'eau, on extrait à l'éther.

L'éther lavé, séché, distillé laisse un résidu de 1,035 g.

Cristallisation dans le méthanol.

Sublimation à 90° sous vide poussé.

Deux formes cristallines :

F : 92°

F : 114°

(α)_D — 63° (CHCl₃ c = 1,15.

— Méthyldihydrodesoxoholamine. 3 α -diméthylamino-pregna-5-ène.

300 mg de déhydrodesoxoholamine

4,5 ml HCOOH

4,5 ml HCHO à 33 %

sont portés quatre heures au bain-marie bouillant, réfrigérant à air.

Après refroidissement, neutralisation par NH₄OH en présence de glace et extraction au chlorure de méthylène.

Le résidu : 320 mg est sublimé à 100° sous vide poussé.

Cristallisation dans l'acétone.

F : 131°.

(α)_D* — 50,5° (CHCl₃ c = 1,18).

Analyse.....	C ₂₃ H ₃₉ N	329,54
calculé %.....	C 83,82	H 11,93
trouvé	83,73	11,92.

PIERCE et SHOPPEE donnent un pouvoir rotatoire de — 38°.

Ce produit a également été préparé par réduction de Wolf-Kischner sur la diméthylholamine.

— Etude de l'hydrogénation des dérivés. 3 α - Δ 5.

— Hydrogénation de l'holamine. 3 α -amino-20-oxo-5 α -pregnane.

1. — Hydrogénation en présence de charbon palladié à 15 %.

500 mg d'holamine sont dissous dans 20 ml d'acide acétique et agités pendant 48 heures en atmosphère d'hydrogène en présence de 500 mg de charbon palladié à 15 %. L'absorption est très lente et n'est terminée qu'après 24 heures au moins. On filtre ensuite le catalyseur sur coton, élimine l'acide acétique par distillation sous vide sans élever la température au-dessus de 40°. On reprend par

l'eau et on extrait au chlorure de méthylène, après alcalinisation à l'ammoniaque. Le chlorure de méthylène est lavé à l'eau distillée et séché sur sulfate de sodium anhydre, puis distillé. Le résidu, 480 mg, est d'aspect cristallin. Il est repris par de l'acétate d'éthyle où il cristallise. On obtient un premier jet de 100 mg de cristaux qui fondent à 128°, que l'on purifie par l'analyse. La dihydroholamine est identique à la funtumine, l'identification a été faite par son point de fusion, le point de fusion mélangé à la funtamine qui n'est pas déprimé, son pouvoir rotatoire et son spectre infrarouge.

F : 128°.

(α)_D + 97° CHCl₃ c = 1,02.

Analysé..... C₂₁H₃₅ON

calculé pour

calculé %	C 79,44	H 11,11	N 4,41
-----------------	---------	---------	--------

trouvé	79,24	11,02	4,71.
--------------	-------	-------	-------

1 bis. — On refait la même hydrogénation que précédemment et le résidu brut n'est pas recristallisé dans l'acétate d'éthyle, mais repris dans du benzène et chromatographié sur 15 g d'alumine.

Le produit est élué à l'éther et à l'éther éthanol ââ. Chacune des fractions donne un chlorhydrate qui est identique au chlorhydrate de funtumine.

La base de chaque fraction cristallise et est identique à la funtumine.

2. — Hydrogénation catalytique en présence de platine.

1 g d'oxyde de platine en suspension dans 30 ml d'acide acétique est agité en atmosphère d'hydrogène. Quand l'oxyde de platine est saturé, on ajoute 2 g d'holamine en solution dans 50 ml d'acide acétique ; l'agitation est poursuivie pendant 24 heures.

L'absorption d'hydrogène correspond environ à 2 moles.

Le platine est éliminé par filtration, à la solution acétique claire, on ajoute goutte à goutte une solution de 1,4 g de CrO₃ dans 4 ml d'eau, ensuite on ajoute goutte à goutte de l'eau de façon à avoir une solution claire. On laisse en contact 24 heures. L'excès d'acide chromique est détruit par addition d'alcool, ensuite l'alcaloïde hydrogéné est extrait au chlorure de méthylène après alcalinisation à l'ammoniaque en présence de glace.

Le chlorure de méthylène lavé, séché et distillé laisse un résidu de 2 g qui est dissous dans le benzène et chromatographié sur 60 g d'alumine Merck.

Chromatographie

F 1-6 benzène 500 mg

F9-13 éther 415 mg

F14-15 éther éthanol 1 g.

Ses fractions sont moins pures que le produit d'hydrogénation en présence de charbon palladié, vraisemblablement à cause de l'oxydation. Nous n'avons pas eu de cristallisation sous forme de bases, mais seulement sous forme de chlorhydrates. Les chlorhydrates

obtenus sont identiques au chlorhydrate de funtumine, l'identification étant faite par les spectres infrarouges (fig. 27 bis).

3. — *Acétylation des fractions de la chromatographie du produit d'hydrogénation de l'holamine.*

Chacune des opérations a été faite de façon identique.

500 mg de base sont dissous dans 30 ml d'anhydride acétique, avec 1,5 ml de pyridine. La solution est portée 1 h. au bain-marie bouillant. On tire ensuite la solution à sec sous vide, on reprend par l'eau et extrait au chlorure de méthylène après alcalinisation à l'ammoniaque. Le chlorure de méthylène est lavé à l'eau distillée, séché sur sulfate de sodium anhydre et distillé. Le résidu ne cristallisant pas dans l'éthanol directement, est repris dans du benzène et filtré sur 10 g d'alumine. Le produit élué au chlorure de méthylène est recristallisé dans l'éthanol et donne un produit qui fond à 245°.

(α)_D + 100°, qui est identique par point de fusion mélangé et pouvoir rotatoire à la N-acétyl-funtumine.

analyse : calculé pour ..	C ₂₃ H ₃₇ O ₂ N	(359,53)		
calculé %	C 76,83	H 10,37	O 8,9	N 3,9
trouvé	76,6	H 10,2	9,0	4,1

Les autres fractions de la chromatographie ont été acétylées de la même façon et le seul produit isolé de ces réactions a été la N-acétyl-funtumine.

4. — *Acétylation du produit brut d'hydrogénation et chromatographie.*

L'hydrogénation catalytique en présence de platine a été conduite de façon identique à celle ci-dessus décrite et le produit brut après oxydation chromique, 1,050, a été acétylé.

1,050 g de base ont été dissous dans 15 ml d'anhydride acétique et portés au bain-marie bouillant 30 minutes.

Après évaporation de l'anhydride acétique sous vide, on reprend à l'eau et on extrait au chlorure de méthylène après alcalinisation.

Le chlorure de méthylène est lavé à l'eau distillée, séché sur sulfate de sodium anhydre et distillé. Le résidu, 1,170 g, est chromatographié sur 35 g d'alumine Merck.

1-4 benzène	450 ml	60 mg
5-8 éther	500 ml	800 mg
9 éthanol	100 ml	200 mg

Les fractions étherées cristallisent dans l'éthanol et donnent un produit cristallisé de point de fusion F : 247°, qui est identique à l'acétyl funtumine précédemment obtenue.

La fraction éluée à l'éthanol ne cristallise pas directement ; elle cristallise après sublimation et le produit cristallisé est identique à l'acétyl funtumine.

Hydrogénation de la dihydrodesoxoholamine. 3 α -amino-5 α -pregnane

500 mg de platine Adams sont mis en suspension dans 10 ml d'acide acétique et agités en atmosphère d'hydrogène jusqu'à arrêt d'absorption. On ajoute alors 1340 mg de dihydrodesoxoholamine F 115° et 10 ml d'acide acétique. On agite en présence d'H₂ jusqu'à l'arrêt de l'absorption. Cette absorption est assez lente. Une fois terminée, on élimine le catalyseur par filtration sur terre d'infusoire et on élimine l'acide acétique par distillation sous vide à la température de 40°. On reprend par l'eau et on extrait au chloroforme après alcalinisation. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium anhydre et distillée. Le résidu, 1,320 g, est dissous dans de l'hexane et chromatographié sur 30 g d'alumine.

1-3 hexane	300 ml	0
4-8 benzène	500 ml	220 mg
9-11 éther	300 ml	960 mg

Les fractions benzéniques cristallisent dans l'hexane et donnent un produit de point de fusion F : 110, identique par son point de fusion, son pouvoir rotatoire et son spectre infrarouge au 3 α -amino-5 α -pregnane.

Les fractions étherées cristallisent sous forme de chlorhydrate et le chlorhydrate possède le même spectre infrarouge que le chlorhydrate de 3 α -amino-5 α -pregnane.

F : 111°

(α)_D + 21° (CHCl₃, c = 1,5)

analyse

calculé pour	C ₂₇ H ₄₇ N	
calculé %	C 83,10	H 12,29
trouvé	83,02	12,18

Hydrogénation de la Diméthyl-dihydro-desoxo-holamine. 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane.

150 mg de platine Adams, en suspension dans 15 ml d'acide acétique sont agités en atmosphère d'hydrogène jusqu'à fin d'absorption. On ajoute alors 300 mg de diméthyl dihydro-desoxo-holamine F : 130°, en solution dans 5 ml d'acide acétique. On poursuit l'agitation en atmosphère d'hydrogène, jusqu'à fin d'absorption. Celle-ci est très rapide et est terminée au bout d'une heure trente. On filtre sur terre d'infusoire pour éliminer le catalyseur et on élimine l'acide acétique par distillation sous vide à 40°. Le produit est alors redissous dans l'eau et extrait par le chlorure de méthylène après alcalinisation à l'ammoniaque. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium anhydre et distillée. Le résidu, 290 mg, est repris dans l'acétone où il cristallise. Le produit est recristallisé pour analyse dans l'acétone.

F : 78°

(α)_D + 30° (CHCl₃ c = 1,1)

analyse

calculé pour	C ₂₃ H ₄₁ N	(331,57)	
calculé %	C 83,31	H 12,46	N 4,22
trouvé	83,1	12,6	4,3

Hydrogénation de la diméthylholamine. 3 α -diméthylamino-20-oxo-

5 α -pregnane + 3 α -diméthylamino-20-oxo-5 β -pregnane.

1,160 de diméthylholamine en solution dans

25 ml d'acide acétique,

0,850 de charbon polladié,

sont agités en atmosphère d'hydrogène.

L'absorption est complète en 5 heures.

Le catalyseur est éliminé par filtration sur terre d'infusoire. La solution acétique est neutralisée par NH₄OH en présence de glace et extraite par le chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium anhydre, distillé, laisse un résidu de 1,100 g.

La chromatographie sur plaque du produit d'hydrogénation fait apparaître deux taches révélées au réactif de Dragendorff.

Le résidu est donc soumis à la chromatographie après dissolution dans un mélange à parties égales de benzène et éther de pétrole.

Chromatographie

1-5	Hexane benzène ââ	250 ml	410 mg
6-7	Benzène	100	160 mg
8-10	Ether		460 mg

Les fractions 1 à 5 éluées au benzène hexane par cristallisation dans l'acétate d'éthyle donnent un produit :

F : 128°

(α)_D + 91° (CHCl₃ c = 1,5)

analyse	C ₂₃ H ₃₉ ON	345,55	
calculé %	C 79,94	H 11,38	N 4,05
trouvé	80,03	11,30	3,90

Le spectre infrarouge est identique à celui du 3 α -diméthylamino-20-oxo-5 α -pregnane (diméthylfuntumine).

Les fractions éluées à l'éther et au benzène cristallisent difficilement. On les purifie sous forme de chlorhydrate et on repasse à la base qui est sublimée :

F : 86°

(α)_D + 97° (CHCl₃ c = 0,95)

analyse de la base	C ₂₃ H ₃₉ ON	345,55	
calculé %	C 79,94	H 11,38	N 4,05
trouvé	C 80,12	H 11,33	N 3,97

Réduction de Wolf-Kischner du 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane.

Le glycolate de sodium est préparé par addition de :

400 mg de sodium dans

7 ml de glycol éthylénique.

On ajoute :

200 mg du produit élué à l'éther, après hydrogénation de la diméthyl-holamine.

0,5 ml d'hydrate d'hydrazine.

On chauffe 5 heures à 150° dans un bain de silicone.

Après dilution à l'eau, le produit de la réaction est extrait à l'éther. L'éther lavé, séché, distillé, laisse 180 mg de résidu.

Cristallisation dans l'acétone.

(α)_D + 29° (CHCl₃ c = 1,1)

F : 77°

analyse	C ₂₈ H ₄₈ N	(331,57)		
calculé %	C 83,31	H 12,46	N 4,22	
trouvé	83,42	12,42	4,08	

Le spectre infrarouge est identique à celui du 3 α -diméthylamino-5 β -pregnane obtenu par hydrogénation de la diméthylidihydrodexo-holamine.

VII. SYNTHÈSE DE L'HOLAMINE, L'HOLAPHYLLAMINE ET L'HOLAPHYLLINE

Introduction en 3, d'une fonction aminée sur un Δ^5 -stéroïde.

I. — Aminolyse du tosylate de prégnénolone

A. — Par la diméthylamine.

Tosylate de prégnénolone.

20 g de prégnénolone sont dissous dans 70 ml de pyridine anhydre conservée sur potasse, en chauffant légèrement. A la solution tiède on ajoute 20 g de paratoluène-sulfochlorure qui est purifié par recristallisation dans le chloroforme.

On laisse une nuit en contact. On jette sur 1 200 ml d'éther dans une ampoule à décantier, puis on ajoute 1 litre d'eau. La solution est extraite par 2 fois 500 ml d'éther. L'éther est lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium et distillé. Le résidu est recristallisé dans l'éther, on essore :

15,5 g F = 144°.

Action de la diméthylamine sur le tosylate.

10 g de tosylate sont chauffés dans un autoclave avec 150 ml de

solution benzénique de diméthylamine à 33 % pendant 24 heures et à 100°.

La solution est ensuite évaporée à sec et reprise par 500 ml d'éther et 100 ml de lessive de soude à 10 %.

L'éther est lavé 2 fois à l'eau et séché sur sulfate de sodium.

Les chlorhydrates sont précipités par addition d'acide chlorhydrique et essorés.

La fraction soluble dans l'éther constitue la *Fraction A*.

La fraction insoluble dans l'éther constitue la *Fraction B*.

Traitement de la fraction A.

La solution est d'abord lavée à l'eau et cette eau de lavage est réunie à la fraction B. Ensuite la fraction A est lavée à l'eau alcaline, puis à l'eau, séchée sur sulfate de sodium et distillée.

Le résidu 1,7 g est passé sur 50 g d'alumine ; il ne donne qu'un produit à l'élution, produit qui est élué par le mélange benzène-hexane à parties égales.

F : 128°

(α)_D = — 21°

Spectre I. R. analogue à celui du 20-oxo-pregna-3-5-diène

analyse pour	C ₂₁ H ₃₀ O		
calculé %	C 84,50	H 10,13	
trouvé	84,49	10,04	

Traitement de la fraction B.

Le précipité de chlorhydrates est repris par de l'éthanol. La solution est diluée à l'eau et extraite par l'éther après alcalinisation à la soude. L'éther est lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium, distillé.

Le résidu, 4,5 g, est passé sur 90 g d'alumine.

Chromatographie

Fractions 1-7	hexane	700 ml	1,6 g	F 109°
8-10	hexane éther	300 ml	0,9 g	F 109°
11-15	éther		1,9 g	F 121°

Fractions F 121°. 3 β -diméthylamino-20-oxo-pregna-5-ène.

Cristallisation dans l'acétone.

F : 121°

(α)_D + 30° (CHCl₃ c = 1,2)

analyse	C ₂₃ H ₃₇ ON			
calculé %	C 80,41	H 10,86	N 4,08	
trouvé	80,28	10,75	4,02	

Spectre I. R. identique à celui de la méthylholaphylline.

Fraction F 109°. 3-5-cyclo-6 β -amino-20-oxo-pregnane.

Cristallisation dans l'acétone.

F = 109°.

(α)_D + 128° (CHCl₃ c = 1,12).

Analyse.....	$C_{23}H_{37}ON$		
calculé %.....	C 80,41	H 10,86	N 4,08
trouvé	80,34	10,84	4,28.

Essai d'hydrogénation du 3-5-cyclo-6 β -amino-20-oxo-pregnane :

200 mg de produit F 109°

200 mg de charbon palladié à 15 %

20 ml CH_3COOH .

Agitation 48 heures en atmosphère d'hydrogène à la pression atmosphérique.

Le catalyseur est éliminé.

L'acide acétique distillé.

Le résidu repris à l'eau et extrait donne 200 mg de produit, qui cristallisé dans l'acétone, possède les mêmes F, (α)_D et spectre I. R. que le produit de départ.

B. — Action de la méthylamine sur le tosylate de prégnénolone.

Tosylate de prégnénolone.

Action de la méthylamine sur le tosylate.

Dans un autoclave, 10 g de tosylate de prégnénolone sont chauffés avec 200 ml de solution benzénique de méthylamine à 10 % à 100° pendant 22 heures.

La solution est ensuite évaporée à sec et reprise par de l'éther et 100 ml de soude à 10 %.

La solution étherée est ensuite lavée avec 2 fois 100 ml d'eau.

Les chlorhydrates sont précipités dans l'éther par addition d'acide chlorhydrique et essorés.

La fraction soluble dans l'éther en milieu acide constitue la *Fraction A* : 1,280.

La fraction insoluble dans l'éther constitue la *Fraction B* : 5,1 g.

— *Traitement de la fraction A.*

Chromatographie.

Les 1,280 g sont chromatographiés sur 35 g d'alumine.

— 700 mg sont élués au benzène, le produit cristallise dans l'acétone.

F = 128°.

(α)_D — 21°.

Analyse.....	$C_{21}H_{30}O$		
calculé %.....	C 84,50	H 10,13	
trouvé	84,41	10,04.	

Spectre I. R. identique à celui du 20-oxo-pregna-3-5-diène.

— 460 mg sont élués à l'éther, cristallisent dans l'acétone.

F = 177°.

Spectre I. R. identique à celui de la prégnénolone.

— *Traitement de la fraction B.*

5,1 g chromatographiés sur 120 g d'alumine.

Elution au benzène.....	2,7 g
éthher	1,3 g
méthanol	1,1 g.

— *Le produit élué au méthanol* 3 β -méthyl-amino-20-oxo-pregna-5-ène.

Cristallise dans le méthanol.

F = 128°.

(α)_D + 23°. Spectre I. R. identique à celui de l'holaphylline.

Analyse.....	C ₂₂ H ₃₅ ON			
calculé %.....	C 80,19	H 10,70	N 4,23	
trouvé	80,33	10,76	4,30.	

— *Le produit élué au benzène et à l'éther* 3-5-cyclo-6 β -méthyl-amino-20-oxo-pregnane obtenu cristallisé sous forme de chlorhydrate.

Analyse.....	C ₂₂ H ₃₅ ON ClH			
calculé	72,24	H 9,91	N 3,82	Cl 9,68
trouvé	72,03	10,05	3,51	9,45

Caractérisation du 3-5-cyclo-6-méthylamino-pregnane.

— *Réaction d'Eschweiler sur le 3-5-cyclo-6 β -méthylamino-20-oxo-pregnane.*

700 mg de base sont traités avec

2,5 ml d'acide formique

2,5 ml de formol à 33 %

pendant 5 heures au bain-marie bouillant.

La solution refroidie est alcalinisée par de l'ammoniaque en présence de glace et extraite à l'éther.

L'éther lavé, séché et distillé, laisse 580 mg de résidu non alcaloïdique, qui est chromatographié sur 15 g d'alumine.

L'élution par l'éther et l'éther éthanol donne 500 mg de produit cristallisant dans l'acétone.

F = 182°.

Le spectre I. R. permet de l'identifier à la prégnénolone.

— *Désamination de Ruschig du 3-5-cyclo-6-méthylamino-pregnane* $\rightarrow$ 3-5-cyclo-6-20-dioxo-pregnane.

375 mg de base sont dissous dans

30 ml de chlorure de méthylène,

175 mg de N chlorosuccinimide sont ajoutés par petites fractions, en agitant.

L'agitation est poursuivie pendant une heure. La solution est ensuite lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium et distillée sans dépasser la température de 40°.

Le résidu de chloramine, 430 mg, est traité par de l'éthylate de sodium obtenu par addition de

0,400 g de sodium dans
25 ml d'éthanol absolu.

Après reflux de 40 minutes, la solution refroidie est versée dans 400 ml d'eau sulfurique à 2 %.

Après repos d'une nuit, la solution acide est extraite par le chlorure de méthylène. Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 115 mg.

Sublimation.

Cristallisation dans l'éthanol.

$F = 165^\circ$.

$(\alpha)_D + 121^\circ$ (CHCl_3 $c = 1,2$).

Analyse.....	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	314,45
calculé %.....	C 80,21	H 9,62
trouvé	80,27	9,61.

Préparation du 3-5-cyclo-6-20-dioxo-pregnane

3-5-cyclo-6-ol-20-oxo-pregnane.

3,600 g de tosylate de prégnénolone

4 g de CH_3COOK

130 ml d'acétone

32,5 ml d'eau.

Bain-marie à reflux pendant 20 heures. L'acétone est ensuite distillée.

La solution diluée à l'eau bicarbonatée est extraite par l'éther.

L'éther lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 2,300 g.

Cristallisation dans l'acétone.

$F = 180^\circ$.

$(\alpha)_D^* + 117^\circ$ (CHCl_3 $c = 1,17$). *

Analyse.....	$\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_2$	
calculé %.....	C 79,70	H 10,19
trouvé	79,50	10,16.

* D. K. PATEL, V. PETROW et (Mrs) I. A. STUART-WEBB donnent
 $F : 180$ $(\alpha)_D + 123^\circ$.

3-5-cyclo-6-20-dioxo-pregnane.

Oxydation chromique.

1,200 g du produit précédent est dissous dans

12 ml de pyridine anhydre, sont ajoutés à

1,200 g d'anhydride chromique en suspension

12 ml de pyridine anhydre.

Après un contact d'une nuit :

200 ml d'éther sont ajoutés et la suspension est filtrée sur terre d'infusoire.

La solution étherée est lavée 3 fois à l'eau, séchée et distillée.

1,1 g de résidu.

Cristallisation dans l'éthanol.

F : 165.

$(\alpha)_D + 121^\circ$ (CHCl_3 $c = 1,15$).

Analyse.....	$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_2$	314,45
calculé %.....	C 80,21	H 9,62
trouvé	80,13	9,62.

C. — Action de NH_3 sur le tosylate de prégnénolone.

1° 20 g de tosylate de prégnénolone sont dissous dans 300 ml de benzène anhydre.

On introduit ensuite, avec précaution, 14 g de NH_3 liquide.

La concentration en NH_3 est environ 4,6 %.

Le mélange réactionnel est chauffé 24 heures à 100° dans un autoclave. La pression atteint 5 kg.

On chasse l'ammoniac à la température ordinaire et on amène la solution benzénique à sec.

Le résidu repris dans 150 ml d'éthanol est agité avec 100 ml de solution à 25 % de lessive de soude.

Après dilution on extrait à l'éther. L'éther est lavé et séché. On fait passer dans la solution étherée un courant d'acide chlorhydrique gazeux. Le précipité de chlorhydrate est essoré. On obtient après décomposition 10 g de bases qui sont chromatographiées sur 300 g d'alumine.

Par élution au benzène-éther on obtient 8 g environ de 3-5-cyclo-6-amino-20-oxo-pregnane, identifié grâce à l'obtention de 3-5-cyclo-6-20-dioxo-pregnane par désamination de Ruschig, et 2 g de 3 β -amino-20-oxo-pregna-5-ène obtenu cristallisé sous forme de chlorhydrate.

Analyse.....	$\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{ON Cl}$	351,5
calculé %.....	C 10,09	N 3,98
trouvé	9,90	3.85.

Spectre I. R. identique à celui du chlorhydrate d'holaphyllamine.

2° La réaction a été faite une seconde fois, en solution dans le toluène, sur :

50 g de tosylate de prégnénolone,

chauffage 24 heures à 100° après addition de 600 ml de NH_3 liquide.

Le produit traité de la même façon que précédemment a permis d'obtenir 13 g de résidu huileux basique, qui, par chromatographie, n'a permis d'isoler qu'un seul produit, identifié par son spectre infrarouge à l'holamine, c'est-à-dire au 3 α -amino-20-oxo-pregna-5-ène.

2. — Azidolyse du tosylate de prégnénolone

A. — Synthèse de l'holaphyllamine.

1. — Tosylate de prégnénolone.

2. — Oxime du tosylate de prégnénolone.

9,2 g de tosylate de prégnénolone sont chauffés à reflux, avec agitation pendant 3 heures avec

2,8 g de chlorhydrate d'hydroxylamine,

3,3 g d'acétate de sodium anhydre, dans

150 ml de benzène anhydre.

Après refroidissement, le mélange réactionnel est dilué avec 100 ml de chlorure de méthylène, lavé deux fois à l'eau distillée et séché sur SO_4Na_2 .

On élimine le solvant et on cristallise dans le benzène.

On obtient 6,75 g d'oxime cristallisé.

F : 169°.

$(\alpha)_D^{20}$ — 39° (CHCl_3 c = 1,14)

Analyse..... $\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{NO}_4\text{S}$ (485,694)

calculé %..... C 69,24 H 8,09 N 2,89

trouvé 69,66 8,03 2,81.

3. — Préparation de l'azide de prégnénolone dans le méthanol

a) Préparation de l'azoture de lithium.

La solution d'azide de lithium est préparée par ébullition à reflux pendant 4 heures avec agitation de 4,25 g de chlorure de lithium et 6,85 g d'azoture de sodium dans 100 ml de méthanol anhydre. On filtre chaud et la solution ainsi obtenue est environ 0,9 molaire en azoture.

b) Azidolyse.

A la solution ci-dessus obtenue, on ajoute 2 g de l'oxime de prégnénolone et on chauffe sept heures à reflux sous azote. On concentre ensuite la solution méthanolique et on extrait par un mélange benzène-éther (1 : 2) la solution lavée, séchée, distillée, laisse un résidu de 2 g huileux.

4. — Réduction de l'azide.

Au résidu précédent on ajoute 100 ml d'éther anhydre et 1 g d'hydruure d'aluminium-lithium. On agite 15 heures à la température du laboratoire. L'excès d'hydruure est ensuite détruit par de l'éther humide puis quelques gouttes d'eau. On complexe ensuite l'alumine en ajoutant de l'acide chlorhydrique jusqu'à dissolution du précipité, puis 20 g de tartrate double de sodium et de potassium.

On extrait ensuite à l'éther après alcalinisation à l'ammoniaque.

L'éther lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 1,460 g.

5. — *Hydrolyse de l'oxime.*

Le résidu ci-dessus est mis en solution dans

150 ml de méthanol et porté 2 h 1/2 à reflux avec 5 ml de ClH pur et 15 ml d'eau distillée.

Après concentration de la solution méthanolique, on extrait à l'éther pour éliminer les dérivés non basiques ; l'éther lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 645 mg.

On extrait ensuite au chlorure de méthylène, après alcalinisation à l'ammoniaque. Le chlorure de méthylène lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 820 mg, qui va être chromatographié sur 25 g d'alumine.

6. — *Chromatographie.*

F	éluant	V	P
1-3	benzène	450	20 mg
4-7	benzène-éther ââ	600	330 mg
8-17	éther.		
-	éther-éthanol ââ	1,500	500 mg

Les diverses fractions ont été transformées en chlorhydrates.

Les fractions 8-17. Chlorhydrate d'holaphyllamine.

F > 320.

(α)_D + 20 (MeOH c = 0,9).

Analyse..... C₂₇H₃₃ONClH

calculé %..... C 71,66 H 9,73 N 3,98 Cl 10,07

trouvé 71,40 9,56 4,15 9,77

Spectre I. R. identique à celui du chlorhydrate d'holaphyllamine naturelle.

Les fractions 4-7. Chlorhydrate de 3-5-cyclo-6-amino-20-oxo-pregnane.

F : 261°.

(α)_D + 61,5° (MeOH c = 1)

Analyse..... C₂₇H₃₃ONCl

calculé..... C 71,64 H 9,74 N 3,98

trouvé 71,61 9,73 3,99.

Identification du 3-5-cyclo-6 β -amino-20-oxo-pregnane.

Désamination par Ruschig.

→ 3-5-cyclo-6-20-dioxo-pregnane.

420 mg correspondant aux fractions éluées au benzène-éther après réduction de l'azide, en solution dans

30 ml de chlorure de méthylène,

220 mg de N-chloro-succinimide sont ajoutés par petites fractions en agitant.

L'agitation est poursuivie une heure.

Le chlorure de méthylène, lavé à l'eau, séché, distillé, laisse un résidu de 525 mg de chloramine, qui est traité par une solution de méthylate de sodium obtenue par addition de :

490 mg de sodium sur
30 ml de méthanol absolu.

Après un reflux de 40 minutes et refroidissement, la solution est jetée sur 400 ml d'eau sulfurique à 2 %.

Après repos une nuit, extraction au chlorure de méthylène.

Le résidu : 320 mg, est sublimé.

Cristallisation dans l'éthanol.

F : 165°.

(α)_D + 121° (CHCl₃ c = 1,15).

Spectre I. R. identique à celui du 3-5-cyclo-6-20-dioxopregnane.

B. — Synthèse de l'holamine.

1° Avec protection du C = O en 20.

1. — Tosylate de prégnénolone.

2. — Oxime du tosylate de prégnénolone.

3. — Azidolyse dans le diméthylsulfoxyde : 3 α -azido-20-oximopregna-5-ène.

3,900 g d'oxime du tosylate de prégnénolone sont ajoutés, en une fois, à une suspension de 12 g d'azoture de sodium, dans
90 ml de diméthylsulfoxyde rectifié sec.

On chauffe à 85-95° sous azote pendant sept heures.

Après refroidissement, on dilue à l'eau et on extrait au mélange éther-benzène.

Le solvant séché, distillé, laisse un résidu de 3,050 g cristallin qui, par cristallisation dans le méthanol, donne un premier jet de

920 mg.

F : 189°.

(α)_D 0 (CHCl₃ c = 1,2).

Analyse	C ₂₁ H ₃₂ ON ₁	356,50		
calculé %	C 70,75	H 9,05	N 15,72	
trouvé	70,24	9,14	15,33.	

4. — Réduction de l'azide. → 3 α -amino-20-oximo-pregna-5-ène.

900 mg d'azide cristallisé réduit par l'hydrure d'aluminium lithium comme ci-dessus, donne un résidu après extraction de 755 mg qui cristallise dans MeOH en donnant un produit de F : 239°, identique à l'oxime de l'holamine par son spectre I. R.

(α)_D — 45° (MeOH CHCl₃ c = 1,22)

analyse	$C_{21}H_{31}ON_2$		
calculé	C 76,31	H 10,37	N 8,48
trouvé	76,07	10,27	8,70

5. — *Hydrolyse chlorhydrique.* → 3 α -amino-20-oxo-pregna-5-ène.

Ebullition 4 heures de 500 mg d'oxime dans un mélange de :

25 ml MeOH,

5 ml ClH pur,

5 ml d'eau distillée.

Après refroidissement, dilution à l'eau, alcalinisation et extraction au chlorure de méthylène.

Résidu de 400 mg de produit cristallisant dans le méthanol sous forme de chlorhydrate.

Spectre I. R. identique à celui du chlorhydrate d'holamine.

Le chlorhydrate cristallisé, décomposé, donne une base cristallisant dans l'acétate d'éthyle.

F : 135°

(α)_D + 23°

analyse	$C_{21}H_{33}ON$		
calculé %	C 79,97	H 10,54	N 4,47
trouvé	79,81	10,34	4,65

Spectre I. R. identique à celui de l'holamine.

2° *Sans protection de la fonction C = O en 20.*

1. — *Tosylate de prégnénolone.*

2. — *Azidolyse dans le diméthylsulfoxyde.* → 3 α -azido-20-oxo-pregna-5-ène.

3,4 g de tosylate de prégnénolone, sont ajoutés en une fois à une suspension de

12 g d'azoture de sodium dans

90 ml de diméthylsulfoxyde rectifié sec.

On chauffe à 90° pendant 5 h 1/2 en agitant.

Après refroidissement et dilution à l'eau, on extrait au mélange éther-benzène (1-1-).

2,228 g de résidu cristallin.

Cristallisation dans le méthanol.

F : 155°

(α)_D + 61° (CHCl₃ c = 1)

analyse	$C_{21}H_{31}ON_3$	341,48	
calculé %	C 73,86	H 9,15	N 12,31
trouvé	73,49	9,00	12,31

3. — *Réduction de la 3 α -azido-prégnénolone.* → 3 α -amino-20-hydroxy-pregna-5-ène.

480 mg d'azide sont réduits par

500 mg d'Al LiH₄ dans
40 ml d'éther anhydre.
Après traitement habituel.

376 mg de résidu qui cristallise dans l'acétate d'éthyle.

F : 203°

(α)_D — 79° (CHCl₃ c = 1,10)

analyse	C ₂₁ H ₃₅ ON		
calculé %	C 79,44	H 11,11	N 4,41
trouvé	79,31	11,13	4,68

Spectre I. R. identique à celui de l'holaminol (fig. 21).

4. — *Oxydation du 3 α -amino-20-hydroxy-pregna-5-ène. → 3 α -amino-20-oxo-pregna-5-ène* (Méthode de Djerassi).

300 mg de dérivé précédent en solution dans
40 ml d'acétone.

On ajoute : 0,4 ml d'une solution obtenue par addition :

de 26,73 g de CrO₃ dans un mélange

de 23 ml de SO₃H₂ pur

q.s.p. 100 ml d'eau distillée.

Après agitation 10 minutes sous atmosphère d'azote, dans un bain de glace, on verse dans

100 ml de solution d'acétate de sodium à 10 %.

On alcalinise au CO₃Na₂ jusqu'à pH nettement alcalin et on extrait à l'éther. La solution étherée laisse, après distillation, un résidu de 250 mg.

Cristallisation dans l'acétate d'éthyle.

F : 135°

(α)_D + 23°

Spectre I. R. identique à celui de l'holamine.

C. — Synthèse de l'holaphylline par l'intermédiaire de l'énamine.

1. — Enamine de la progestérone.

5 g de progestérone sont chauffés dans un autoclave de 125 ml avec 30 ml de diméthylamine anhydre en présence de 100 mg d'acide paratoluène sulfonique et de 10 g de sulfate de calcium anhydre.

Le chauffage est maintenu à 100° pendant une nuit. On évapore la diméthylamine et on reprend par du chlorure de méthylène.

Le chlorure de méthylène est lavé à l'eau, séché sur sulfate de sodium anhydre et distillé.

Le résidu est repris par de l'acétone où cristallisent :

2,620 g d'énamine de point de fusion F : 165°.

(α)_D — 32,5° (CHCl₃ c = 1,26).

Analyse	C ₂₃ H ₃₅ ON	341,52		
calculé %	C 80,88	H 10,33	N 4,10	
trouvé	81,09	10,32	4,36.	

2. — *Réduction de l'énamine.* 3 β -diméthylamino-20 β -hydroxy-pregna-5-ène.

1 g de l'énamine ci-dessus est dissous dans 40 ml de méthanol. On ajoute par petites fractions 2 g de borohydrure de potassium et on agite pendant cinq heures.

On dilue à l'eau et extrait au chloroforme. Le chloroforme est lavé 4 fois à l'eau, séché sur SO_4Na_2 et distillé.

Le résidu 1 g est recristallisé dans le méthanol.

Point de fusion : 196°.

Pouvoir rotatoire — 64° (CHCl_3 c = 1,1).

Analyse

calculé pour	$\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{ON}$		
calculé %	C 79,94	H 11,37	N 4,05
trouvé	79,7	11,1	4,1.

3. — 3 β -diméthylamino-20 β -acétoxy-pregn-5-ène.

1 g du produit précédent est dissous en chauffant légèrement dans 10 ml de pyridine séchée sur potasse et 10 ml d'anhydride acétique.

On laisse en contact une nuit.

On évapore à sec, sous vide, on reprend par de l'eau et on extrait par du chloroforme après alcalinisation au carbonate de sodium.

Le chloroforme est lavé, séché, distillé.

Le résidu, 1,175 g, est filtré sur 12 g d'alumine.

La fraction éluee au benzène, 0,830 g, est recristallisée dans le méthanol.

Le produit F : 90°.

(α)_D — 28° (CHCl_3 c = 1,06).

4. — *Diméthylation par la méthode de Von Braun.*

3 β -méthylamino-20 β -hydroxy-pregn-5-ène.

a) *Préparation de la cyanamide.*

750 g du 3 β -diméthylamino-20 β -acétoxy-pregn-5-ène sont dissous dans 30 ml d'éther anhydre et ajoutés goutte à goutte en agitant à une solution de 2 g de bromure de cyanogène dans 40 ml d'éther anhydre.

On poursuit l'agitation deux heures.

Au cours de la réaction, il y a précipitation d'un produit insoluble dans l'éther, que l'on sépare : 95 mg.

L'éther est distillé à sec, le résidu, 700 mg, dont le spectre indique une bande cyanamide, va être saponifié.

b) *Saponification de la cyanamide.*

Les 700 mg de cyanamide sont chauffés 48 heures avec 20 ml de méthanol, 2 ml d'eau et 2 g de KOH. On dilue ensuite à l'eau, on extrait au chloroforme.

Le chloroforme lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 550 mg.

Ce résidu est repris par le méthanol, où cristallisent 150 mg ; le produit cristallisé possède le spectre infrarouge identique à celui de l'holaphyllinol, par recristallisation, on obtient un produit de point de fusion :

F : 226°.

(α)_D — 75° (CHCl₃ c = 1,02).

Analyse.....	C ₂₂ H ₃₇ ON		
calculé %.....	C 79,70	H 11,25	N 4,23
trouvé	79,56	11,18	4,50.

5. — 3 β -méthylamino-20-oxo-pregna-5-ène — oxydation par la méthode de Djerassi.

150 mg du produit cristallisé ci-dessus sont dissous dans 20 ml d'acétone.

A la solution, refroidie dans la glace, on ajoute : 0,2 ml de réactif oxydant.

(Réactif oxydant : SO₃H₂ concentré 23 ml
eau distillée q. s. p. 100 ml

dissoudre dans ces 100 ml 26,73 g de CrO₃).

Après addition du réactif, agitation 10 minutes sous atmosphère d'azote.

On verse ensuite dans 50 ml de solution d'acétate de sodium à 10 % et on extrait par l'éther. Après alcalinisation par CO₃Na₂ l'éther lavé, séché, distillé, laisse un résidu de 130 mg.

Sublimation.

Cristallisation dans MeOH.

F : 128°.

(α)_D + 23°.

Analyse.....	C ₂₂ H ₃₅ ON	329,51	
calculé %.....	C 80,19	H 10,71	N 4,25
trouvé	79,95	10,65	4,38.

Spectre I. R. identique à celui de l'holaphylline.

CONCLUSION

Nous avons isolé des feuilles d'une apocynacée africaine, *Holarhena floribunda* DUR. et SCHINZ, 4 alcaloïdes :

— la *Triacanthine*, dont la structure est celle de la 3 γ , γ -diméthylallyl-adénine ;

— trois stéroïdes aminés :

l'*Holaphylline* ou 3 β -méthyl-amino-20-oxo-pregna-5-ène,

l'*Holaphyllamine* ou 3 β -amino-20-oxo-pregna-5-ène,

l'*Holamine* ou 3 α -amino-20-oxo-pregna-5-ène.

La structure de la triacanthine a été déterminée par des méthodes de dégradation et surtout par des méthodes physiques :

Spectre pK'a, spectre ultraviolet, spectre R.M.N.

Une nouvelle méthode de synthèse des dérivés de l'adénine substituée en position 3 ou en position 7, a été mise au point. Les mécanismes de ces réactions ont été étudiés.

Les structures des 3 alcaloïdes stéroïdiques ont été déterminées par des méthodes de dégradation, dont la principale (réaction de Ruschig) permet d'obtenir, à partir de ces 3 bases, une hormone stéroïde : la progestérone.

L'obtention de progestérone montre que ces 3 alcaloïdes possèdent une fonction basique en position 3 dans la molécule du Δ^5 -pregnène.

La configuration absolue de ces 3 amines a été démontrée, puis confirmée, par leur synthèse.

L'étude des méthodes d'introduction d'une fonction amine en position 3 dans un 5Δ -stéroïde nous a permis de mettre au point une nouvelle méthode par substitution nucléophile des dérivés 3 β -tosyloxy par l'anion N $_3^-$ dans le diméthyl-sulfoxyde.

Cette méthode donne, avec un excellent rendement, le dérivé aminé en position 3 α .

BIBLIOGRAPHIE

1. A. AUBRÉVILLE, Flore forestière de la Côte-d'Ivoire. Paris. Larose édit., 1936, **3**, 170.
2. D. H. R. BARTON, J. D. COX, *J. Chem. soc.*, 1948, 783.
3. D. H. R. BARTON, N. J. HOLNESS, *J. Am. Chem. Soc.*, 1950, **72**, 3274.
4. D. H. R. BARTON, L. R. MORGAN Jr, *Proceedings of the Chemical Society*, juin 1961, p. 206.
5. D. H. R. BARTON, Communication particulière.
6. A. S. BELIKOV, A. I. BANKOWSKY, M. V. TSAREV, *Zhur. Obshehei. Khim.* 1954, **24**, 914.
7. A. BENDICK, P. J. RUSSEL et J. J. FOX, *J. Am. Chem. Soc.*, 1954, **76**, 6077.
8. A. BERTHO, G. VON SCHONBERGER, *Ber. dtsch Chem. Ges.*, 1933, **66**, 786, 790.
9. A. BERTHO, *Arch. Pharm. Berl.*, **277**, 237-257.
10. A. BERTHO, M. GÖTZ, *Ann. Chem.*, 1958, **619**, 1-3, 96-121.
11. R. BEUGELMANS, C. KHAN-FAN, J. LE MEN, Sous presse.
12. BEYMON, HEILBRON, SPRING, *J. Chem. Soc.*, 1937, 1459.
13. N. G. BISSET, *Annales bogorienses*, 1958, vol. 3, part. 1, 105-236.
14. W. R. BOON, W. G. JONES, G. R. RAMAGE, *J. Chem. Soc.*, 1951, 96.
15. J. H. BOYER, *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, **73**, 5865.
16. R. BROWN, *Mem. Wern. Soc.*, 1809, **1**, 62.
17. A. BUTENANDT, W. GROSSE, *Ber.*, 1937, **70**, 1446.
18. J. F. CAIUS, K. S. MHASKAR, *Ind. Med. Res.* 1927, Mem., n° 6, p. 1-61.
19. L. F. CAVALIERI, J. F. TURKER, A. BENDICH, *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, **71**, 533.
20. A. CAVÉ, J. A. DEYRUP, R. GOUTAREL, N. J. LEONARD et X. G. MONSEUR. *Ann. Pharm. Fr.*, Sous presse.
21. A. CHATTERJEE et B. DAS, *Chem. Ind.*, 1959, 1445.
22. A. CHATTERJEE et B. DAS, *Chem. Ind.*, 1960, 290.
23. A. CHEVALIER, *Rev. int. Bot. appl. et Agr. trop.*, 1948, **28**, 115-20.
24. H. CONROY, *Nuclear Magnetic resonance*, 1960, vol. II, p. 303, interscience Publishers Inc. N. Y.
25. D. J. CRAM, B. RICKBORN, C. A. KINSBURY, P. HABERFIELDS, *J. Am. Chem. Soc.*, 1961, **83**, 3678.
26. K. C. DAS, P. P. PILLAY, *J. Sci. Indust. Res.*, 1954, **13** B, 602 et 701.
27. F. M. DEAN, *Fortschritte der chemie organische Naturstoffe*, Ed. by L. Zechmeister, 1952, **9**, 269.
28. A. DE CANDOLIE, *Prodomus systematis naturalis regni vegetabilis* 1844, **8**, 413.
29. DERPER, PICKETT, BOORD, *J. Am. Chem. Soc.*, 1949, **71**, 1482.

30. R. DENAYER, A. CAVÉ, R. GOUTAREL, *Comptes rendus Ac. Sci.*, 1961, **253**, 2994.
31. D. DICKEL, R. LUCAS, H. B. Mc PHILLAMY, *J. Am. Chem. Soc.*, 1959, **81**, 3154.
32. C. DJERASSI, R. R. ENGLE, A. BOWERS, *J. Org. Chem.*, 1956, **21**, 1547.
33. G. DON, *A general system of gardening and Botany London*, 1834, **3**, 516.
34. D. DULOU, E. ELLIK, A. VEILLARD, *Bull. Soc. Chim.* 1960, p. 967.
35. T. DURAND et SCHINTZ, *Etudes florales du Congo, Bruxelles*, 1896, 190.
36. W. ESCHWEILER, *Chem. Ber.*, 1905, **38**, 880.
37. D. E. EVANS, C. W. SHOPPEE, G. H. R. SUMMERS, *Chem. Ind.*, 1954, 1535.
38. H. FAVRE, R. D. HAWORTH, J. Mc KENNA, R. G. POWELL, G. H. WHITFIELDS, *J. Chem. Soc.*, 1953, 1115.
39. L. FIESER and M. FIESER, *Steroids*, 1959, Reinhold Publishing Co.
40. *Idem.*, p. 271.
41. *Idem.*, p. 314.
42. FREUND, *Ber.*, 1884, **17**, 133.
43. S. GHOSH et N. N. GHOSH, *J. Ind. Chem. Soc.*, 1928, **5**, 477-482.
44. S. GHOSH et I. B. BOSE, *Arch. Pharm. Berl.*, 1932, **270**, 100-108.
45. G. GIEMSA, J. HALBERKANN, *Arch. Pharm. Berl.*, 1918, **256**, 201-222.
46. R. GOUTAREL, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1960, 769.
47. R. GOUTAREL, *Tetrahedron*, 1961, vol. 14, 126-137.
48. R. GOUTAREL, X. MONSEUR, C. CONREUR, sous presse.
49. V. GRIGNARD, *Traité de chimie organique*, vol. XX, Masson et Cie, Paris, 1953, page 121.
50. HADLER, *Experientia*, 1955, **11**, 175.
51. R. HAINES, *Trans. Med. Soc. Bombay*, 1858, **4**, 28.
52. R. HAINES, *Pharm. J.*, 1865, **6**, 438.
53. R. D. HAWORTH, *J. Chem. Soc.*, 1932, 631.
54. R. D. HAWORTH, J. Mc KENNA, G. H. WHITFIELDS, *J. Chem. Soc.*, 1953, 1102.
55. R. D. HAWORTH, J. Mc KENNA, R. G. POWELL, *J. Chem. Soc.*, 1953, 1110.
56. R. D. HAWORTH, L. H. C. LUNTS, J. Mc KENNA, *J. Chem. Soc.*, 1953, 986.
57. R. D. HAWORTH, L. H. C. LUNTS, J. Mc KENNA, *J. Chem. Soc.*, 1956, 3749.
58. R. D. HAWORTH, M. MICHAEL, *J. Chem. Soc.*, 1957, 4973.
59. T. A. HENRY, *The plants alkaloïds* 1949, J. A. Churchill, Ltd London.
60. T. A. HENRY et H. C. BROWN, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1923-1924, **17**, 378.
61. M. E. HERR, F. W. HEYL, *J. Am. Chem. Soc.*, 1952, **74**, 3627.
62. W. R. HERTLER, E. J. COREY, *J. org. Chem.*, 1958, **23**, 1221.
63. F. W. HEYL, M. E. HERR, *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, **75**, 1919.
64. W. J. HOOKER, *Niger Flora*, London, 1849, p. 450.
65. L. HORNER, A. GROSS, *Annalen*, 1955, **591**, 117.
66. R. HUISGEN, *Ber.*, 1957, **90**, 2914.
67. R. HULL, *J. Chem. Soc.*, 1951, 2214.
68. J. HUTCHINSON, J. M. DALZIEL, *Flora of West tropical Africa*, London, 1931, **2**, 42.

69. R. J. IRANI, *Chemistry of Kurchi seeds*, Current Science, 1946, **15**, 106-107, 229-231.
70. M. M. JANOT, Q. KHUONG HUU, R. GOUTAREL, *C. R. Ac. Sc.*, 1958, **246**, 3076.
71. M. M. JANOT, Q. KHUONG HUU, R. GOUTAREL, *C. R. Ac. Sc.*, 1959, **248**, 982.
72. M. M. JANOT, A. CAVÉ, R. GOUTAREL, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1959, 896.
73. M. M. JANOT, A. CAVÉ, R. GOUTAREL, *C. R. Ac. Sc.*, 1960, **251**, 559.
74. M. M. JANOT, Q. KHUONH HUU, R. GOUTAREL, *C. R. Ac. Sc.*, 1960, **250**, 2445.
75. M. M. JANOT, X. LUSINCHI, Q. KHUONG-HUU, R. GOUTAREL, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1960, 1669.
76. M. M. JANOT, F. LAINÉ, R. GOUTAREL, *Ann. Pharm. Fr.*, 1960, **18**, 678.
77. M. M. JANOT, F. LAINÉ, R. GOUTAREL, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1962, 648.
78. J. L. JOHNSON et coll., *J. Am. Chem. Soc.* 1956, **78**, 430.
79. W. S. JOHNSON, V. J. BAUER, R. W. FRANCK, *Tetrahedron Letters*, 1961, n° 2, 72-75.
80. S. JULIA, M. JULIA, M. DAVIS, *Bull. Soc. Chim. Fr.* 1960, **1**, 160.
81. P. L. JULIAN, A. MAGNANI, E. W. MEYER, W. COLE, *J. Am. Chem. Soc.*, 1948, **70**, 1834.
82. D. D. KANGA, P. R. AYYAR, J. L. SIMONSEN, *J. Ind. Inst. Sc.*, 1926, **94**, 8.
83. D. D. KANGA, P. R. AYYAR, J. L. SIMONSEN, *J. Chem. Soc.*, 1926, **129**, 2123.
84. KARRER, ESCHER, RENTSCHLER, *Helv. Chim. Acta*, 1939, **22**, 1288.
85. A. KEIDEL, *uber die physiologische wirkung des conessins*, *Dissert göttinge*, 1878.
86. Q. KHUONG HUU, *Thèse de doctorat es-sciences*, Paris, 1960.
87. W. KLYNE, *The Chemistry of the steroids*, Methuen and Co, London, 1957, p. 145.
88. L. LABLER, V. CERNY, *Chem. listy*, 1957, **51**, 2344.
89. L. LABLER, V. CERNY, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1959, **24** (2), 370-7, 378-83.
90. J. LE MEN, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1960, 860.
91. N. J. LEONARD, J. A. DEYRUP, *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, **82**, 6202.
92. N. J. LEONARD, Communication personnelle.
93. J. R. LEWIS, C. W. SHOPPEE, *Chemistry and Industry*, 1953, 897.
94. J. R. LEWIS, C. W. SHOPPEE, *J. Chem. Soc.*, 1955, 1365.
95. J. MC KENNA, *Quarterley Rewiew*, 1953, **7**, 231.
96. C. MANNICH, H. DAVIDSEN, *Ber.*, 1936, **69**, 2106.
97. R. H. F. MANSKE, H. L. HOLMES, *The Alkaloids*, Academic Press, 1953. vol. III, 1960, vol. II.
98. L. MARCHAL, R. PROMEL, R. H. MARTIN, A. CARDON, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 1960, **69**, 188.
99. J. MILLER, A. J. PARKER, *J. Am. Chem. Soc.* 1961, **83**, 117.
100. X. G. MONSEUR, E. L. ADRIENS, *J. Pharm. Belg.*, 1960, p. 279.
101. J. A. MONTGOMERY, *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, **78**, 1929.
102. J. A. MONTGOMERY, K. HEWSON, *Abstracts of papers of 139th meeting of Amer. Chem. Soc.*, mars 1960, 21-30. St-Louis Missouri, p. 16 N.
103. NAZAROV, ANANCHENKO, TORGOV, ZHUR. *Obshcher Khim*, 1956, **26**, 819.
104. R. PARIS, *Bull. Sci. Pharm.*, 1938, **45**, 543.
105. R. PARIS, *Bull. Sci. Pharm.*, 1942, **49**, 33.

106. D. K. PATEL, V. PETROW, Mrs I. A. STUART-WEBB, *J. Chem. Soc.*, 1957, 665.
107. D. H. PEACOCK, J. C. CHOWDHURY, *J. Chem. Soc.*, 1935, **734**.
108. M. PICHON, *Mem. Mus. Hist. Nat. Paris*, Série B, Bot 1, 1-143.
109. J. N. PIERCE, C. H. RICHARDS, C. W. SHOPPEE, J. R. STEPHENSON, G. H. R. SUMMERS, *J. Chem. Soc.*, 1955, 694.
110. L. PLANCHON, *Produits fournis à la matière médicale par la famille des Apocynacées*, Montpellier 1894.
111. PLATTNER, LONG, *Helv. Chem. Acta*, 1944, **27**, 1872.
112. K. POLSTORFF, *Ber.*, 1886, XIX, 1682.
113. K. POLSTORFF et P. SCHIRMER, *Ber. disch. Chem. Ges.*, 1886, **19**, 78-85.
114. F. L. PYMAN, *J. Chem. Soc.*, 1919, **115**, 163-166.
115. R. K. ROBINS, K. J. DILLE, C. H. WILLITS, B. E. CHRISTENSEN, *J. Am. Chem. Soc.* 1953, **75**, 263.
116. R. K. ROBINS, K. J. DILLE, B. E. CHRISTENSEN, *J. Org. Chem.*, 1854, **19**, 932.
117. M. J. T. ROBINSON, *Tetrahedron*, 1957, **1**, 49.
118. H. ROSTOCK, E. SEEBECK, *Helv. Chim. Acta*, 1958, **41**, 11.
119. A. C. ROY, B. J. MUKERJI, *Sci. Indus. Res. (India)*, 1958, **17** A 158-64.
120. H. RUSCHIG, W. FRITSCH, J. SCHMIDT-THOME, W. HAEDT, *Chem. Ber.*, 1955, **88**, 883.
121. H. L. SCHLAFFER, W. SCHAFFERNICHT, *Angew. Chem.*, 1960, **72**, 618.
122. A. SCHMIT, *Thèse de doctorat en pharmacie*, Paris 1950.
123. M. SEGAL, D. SHAPIRO, *J. Med. and pharm. Chem.*, 1959, **1**, 375.
124. C. W. SHOPPEE, B. D. AGASHE, G. H. R. SUMMERS, *J. Chem. Soc.*, 1957, 3107.
125. C. W. SHOPPEE, D. E. EVANS, H. C. RICHARDS, G. H. R. SUMMERS, *J. Chem. Soc.*, 1956, 1649.
126. S. SIDDIQUI, P. P. PILLAY, *J. Ind. Chem. Soc.*, 1932, **9**, 553.
127. S. SIDDIQUI, P. P. PILLAY, *J. Ind. Chem. Soc.*, 1953, **10**, 673.
128. S. SIDDIQUI, *J. Ind. Chem. Soc.*, 1934, **11**, 283.
129. S. SIDDIQUI, R. H. SIDDIQUI, *J. Ind. Chem. Soc.*, 1934, **11**, 787.
130. S. SIDDIQUI, *Proc. Ind. Acad. Sci.*, 1935, **2** A, 426.
131. S. SIDDIQUI, *Proc. Ind. Acad. Sci.*, 1936, **3** A, 249, 257.
132. S. SIDDIQUI, R. H. SIDDIQUI, S. K. SARMA, *Proc. Ind. Ac. Sci.*, 1936, **4** A, 283.
133. S. SIDDIQUI, V. N. SARMA, *Proc. Ind. Acad. Sci.*, 1937, **6** A, 191 et 199.
134. S. SIDDIQUI, P. P. PILLAY, *Proc. Ind. Acad. Sci.*, 1939, **10** A, 417.
135. S. SIDDIQUI, S. C. MISRA, V. SHARMA, *J. Sci. ind. Res.*, 1945, **3**, 555.
136. S. SIDDIQUI, VASISHT, *J. Sci. Ind. Res. (India)*, 1945, **3**, 559.
137. *Ibid.*, 1946, **4**, 435.
138. *Ibid.*, 1946, **4**, 440.
139. F. SORM, L. LABLER, V. CERNY, *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.*, 1953, vol. **18**.
140. F. SORM, L. LABLER, V. CERNY, *Chem. Listy*, 1953, **47**, 48.
141. F. SORM, L. LABLER, V. CERNY, *Chem. Listy*, 1954, **48**, 1958.
142. F. SORM, L. LABLER, V. CERNY, *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.*, 1954, **19**, 1249.
143. G. B. SPERO, J. L. THOMPSON, B. J. MAGERLEIN, A. R. HANZE, H. C. MURRAY, O. K. SEBEK, J. A. HOGG, *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, **78**, 6213.
144. STAUDINGER, KREIS, SCHILT, *Helv. Chem. Acta*, 1922, **5**, 744.
145. R. TSCHESCHE, A. C. ROY, *Chem. Ber.*, 1956, **89** (5), 1288.

- 146 R. TSCHESCHE, K. WIENSZ, *Chem. Ber.*, 1958, **91**, 1504.
 - 147. F. ULRICI, *Arch. Pharm. Berl.*, 1918, **256**, 57.
 - 148. L. VELLUZ, *Synthèse organique*, volume 7.
 - 149. S. VERA, E. SZABO, J. IBANEZ, *Bull. Soc. biol. Santiago Chile*, 1953, **10**, 19.
 - 150. H. WARNECKE, 1886, *Ber dtsch, Chem. Ges.*, **19**, 60-62.
 - 151. C. WEHMER, *Die Pflanzenstoffe*, Jena, 1929.
 - 152. C. W. WHITE HEAD, J. J. TRAVERSO, *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, **82**, 3971.
-

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté :

Rapports entre les fonctions biologiques des Kinines et leur structure chimique et celle des substances analogues

Vu et approuvé :

Paris, le 9 Mai 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE

